

UNIVERSITE PAUL-SABATIER - TOULOUSE III

U.E.R. DES SCIENCES MEDICALES

ANNEE 1974-1975

THESE N°34

EXPLORATION PAR LE FIBRINOGENE RADIOACTIF
DES PHENOMENES DE COAGULATION INTRA-RENALE
RESULTATS PRELIMINAIRES

- ° -

THESE

POUR LE DOCTORAT D'ETAT EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement en septembre 1974

par

Jacques SIMON

JURY

MM. R.	AUVERGNAT	Président
J.M.	SUC	Assesseur
R.	GUIRAUD	Assesseur
J.	CONTE	Assesseur
J.	CROS	Suppléant



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546614_0025

UNIVERSITE PAUL-SABATIER - TOULOUSE III

U.E.R. DES SCIENCES MEDICALES

ANNEE 1973-1974

THESE N° 302

EXPLORATION PAR LE FIBRINOGENE RADIOACTIF
DES PHENOMENES DE COAGULATION INTRA-RENALE
RESULTATS PRELIMINAIRES

THESE

POUR LE DOCTORAT D'ETAT EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement en septembre 1974

par

Jacques SIMON

Travail :

- . du Service Central d'Explorations Fonctionnelles
par les Radioéléments (Professeur R. GUIRAUD)
- . du Service de Néphrologie (Professeur J.M. SUC)
- . du Service d'Hémodialyse Périodique
(Professeur J. CONTE)

JURY

MM. R.	AUVERGNAT	Président
J.M.	SUC	Assesseur
R.	GUIRAUD	Assesseur
J.	CONTE	Assesseur
J.	CROS	Suppléant



UNIVERSITE PAUL SABATIER

Président de l'Université
1^{er} Vice-Président
2^e Vice-Président

M. LARENG
M. MATHIS
M. MARTIN

TABLEAU DU PERSONNEL

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DES SCIENCES MEDICALES

Directeur de l'Unité des Sciences Médicales M. BOLLINELLI
Toulouse-Purpan
Directeur de l'Unité des Sciences Médicales M. ENJALBERT
Toulouse-Rangueil

HONORARIAT

Doyen honoraire	M. CALVET
Doyen honoraire	M. BRUSTIER
Doyen honoraire	M. LAZORTHES
Professeur honoraire	M. VALLOIS
Professeur honoraire	M. TAPE
Professeur honoraire	M. DELAS
Professeur honoraire	M. RISER
Professeur honoraire	M. BUGNARD
Professeur honoraire	M. VINCENT
Professeur honoraire	M. MOREL
Professeur honoraire	M. BOUISSET
Professeur honoraire	M. CALMETTES
Professeur honoraire	M. THOMAS
Professeur honoraire	M. LAGROT
Professeur honoraire	M. DESFORGES-MERIEL
Professeur honoraire	M. FABRE P.
Professeur honoraire	M. JAHIER
Professeur honoraire	M. SENDRAIL
Professeur honoraire	M. PONS
Professeur honoraire	M. SOREL
Professeur honoraire	M. PLANQUES
Professeur honoraire	M. MARQUES

PROFESSEURS

Clinique Médicale et Cardiologie	M. DARDENNE	Purpan
Clinique Médicale Sud	M. GADRAT	Purpan
Clinique Chirurgicale	M. GEDEON	Rangueil
Clinique Chirurgicale A et Gynécologie	M. POULHES	Rangueil
Clinique Chirurgicale B et du Cancer	M. GRIMOUD	Purpan
Clinique Chirurgicale Infantile et Orthopédie	M. PASQUIE	Purpan
Clinique Chirurgicale Orthopédique et Traumatologie	M. FICAT	Rangueil
Clinique de Chirurgie Cardio-vasculaire	M. ENJALBERT	Rangueil
Cliniques des Maladies Cutanées et Syphilitiques	M. BAZEX	Purpan
Clinique des Maladies des Voies urinaires	M. LNEZ	Rangueil
Clinique des Maladies Infectieuses	M. ARMENGAUD	Purpan
Clinique Médicale Infantile A	M. DALOUS	Purpan

Clinique Médicale Infantile B	M. REGNIER	Purpan
Clinique de Neuro-Chirurgie	M. LAZORTHES G.	Rangueil
Clinique Neurologique et Psychiatrique	M. GERALD	Rangueil
Clinique Obstétricale	M. PONTIGNIER	Rangueil
Clinique Stomatologiques et Chirurgie Maxillo-faciale	M. CADENAT	Rangueil
Clinique Ophtalmologique	M. DEODATI	Rangueil
Clinique O.R.L. et Chirurgie maxillo-faciale	M. CLAUX	Rangueil
Clinique de Pneumo-phthisiologie	M. DELAUDE	Purpan
Clinique Rhumatologique	M. RUFFE R.	Purpan
Accouchement et Obstétricie Sociale	M. MONROZIES	Purpan
Anatomie	M. BASTIDE	Purpan
Anatomie Pathologique	M. FABRE J.	Purpan
Anatomie Appliquée	M. JUSSEWENSKI	Rangueil
Anesthésie et Réanimation	M. LARENG L.	Purpan
Bactériologie et Virologie	Mme ENJALBERT	Rangueil
Biophysique Médicale A	M. AUVERGNAT	Purpan
Biophysique Médicale B	M. BRU	Rangueil
Cardiologie Clinique et Expérimentale	M. CALAZEL	Rangueil
Chimie Médicale	M. VALDIGUIE P.	Purpan
Electro-Radiologie	M. ROULLEAU	Rangueil
Embryologie Générale	M. BROUSSEY J.	Purpan
Hématologie	M. BIERNE	Rangueil
Histologie	M. BINES	Rangueil
Hydrologie, Thérapeutique et Climatologie	M. DENARD	Purpan
Hygiène et Médecine Sociale	M. MONNIER	Purpan
Immunologie	M. DUCOS	Purpan
Médecine Légale et Médecine du Travail	M. GREZES-BUEFF	Purpan
Pathologie Chirurgicale	M. DAMBRIN	Purpan
Pathologie Générale et Médecine Expérimentale	M. BOULARD	Purpan
Pathologie Médicale	M. RIEAUT	Purpan
Physiologie	M. BESSOU	Purpan
Physiologie Appliquée et Pharmacologie	M. BAISSY	Rangueil
Sémiologie et Clinique Médicale	M. LAPORTE J.	Purpan
Thérapeutique	M. DARMAUD	Rangueil

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

Anatomie Pathologique	M. BOUISSE	Rangueil
Biophysique Médicale	M. DOUSTE-GLAZ	Rangueil
Dermatologie-Vénérologie	M. DUPRE	Rangueil
Histologie et Embryologie	M. GUILHEM	Rangueil
Histologie et Embryologie	M. PLANEL	Purpan
Neurologie et Neuro-Psychologie	M. RASCOL	Purpan
Physiologie et Pharmacologie	M. MONTASTRUC	Purpan
Pneumo-Phthisiologie	M. MIGUERES	Rangueil

Médecine Interne	M. LE TALLEC	Rangue II
Psychiatrie	M. GAVRAL	Purpen
Ophthalmologie	M. BEC	Purpen
Médecine Générale	M. ARLEY	Rangue II
Neuro-Chirurgie	M. ESPAGNO J.	Purpen

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Anatomie Pathologique	M. FABRE Jean	Purpen
Bactériologie, Parasitologie, Virologie	Mme LARENG M.B.	Purpen
Biochimie Médicale	M. VALDIGUIE Pierre	Rangue II
Biophysique	M. GURAUD R.	Purpen
Carcinologie	M. ESTRADÉ	Purpen
Chirurgie Générale	M. SARRAZIN	Rangue II
Chirurgie Générale	M. ESCAT J.	Rangue II
Chirurgie Générale	M. COSTAGLIOLA	Purpen
Chirurgie Infantile	M. GAUBERT	Rangue II
Chirurgie Thoracique et Cardio-vasculaire	M. ESCHAPASSE	Purpen
Médecine Générale et Thérapeutique	M. BES	Rangue II
Médecine Générale et Thérapeutique	M. BOLLINELLI	Purpen
Médecine Générale Thérapeutique	M. SUC	Rangue II
Médecine Générale	M. RIBET	Rangue II
Médecine Interne	M. FEDOU R.	Purpen
Orthopédie, Traumatologie, Chirurgie	M. UTHEZA	Purpen
Plastique		
Parasitologie	M. LARROUY	Purpen
Physiologie	M. GERAL	Rangue II
Physiologie	M. PAGES B.	Purpen
Radiologie	M. COMBES	Purpen

MAÎTRES DE CONFÉRENCES AGREGES

Anatomie et Organogénèse	M. BECUE	Rangue II
Anatomie Pathologique	M. RUMEAU J.L.	Rangue II
Anesthésiologie	M. VIRENQUE C.	Rangue II
Bactériologie-Virologie	Mme DIOIER	Rangue II
Biophysique	M. REGIS	Rangue II
Cancérologie	M. CARTON M.	Rangue II
Cardiologie	M. BERNADET	Rangue II
Cardiologie	M. BOUNHOURÉ	Rangue II
Chirurgie Générale	M. GOUZI	Rangue II

Chirurgie Thoracique et Cardio-vasculaire	M. PUEL	Rangue II
Gynécologie et Obstétrique	M. PONTONNIER G.	Rangue II
Hépatogastro-entérologie	M. PASCAL	Purpen
Histologie, Embryologie, Cytogénétique	M. SOLEILHAVOUP	Purpen
Immunologie, Nématologie, Maladies du Sang	M. COLOMBES	Purpen
Médecine Interne	M. GALINIER	Purpen
Médecine du Travail	M. PUJOL M.	Purpen
Néphrologie	M. CONTE J.	Purpen
Neurochirurgie	M. LAZORTHES V.	Rangue II
Neurologie	M. GURAUD-CHAUMEL	Purpen
O.R.L.	M. LACOMME	Purpen
Orthopédie, Traumatologie, Chirurgie	M. GAY	Purpen
Plastique et Reconstructive		
Pédiatrie Générale Médicale	M. BARTHE Ph.	Purpen
Pédiatrie Générale Médicale	M. GHISOLFI	Purpen
Pédiatrie Générale Médicale	M. ROCHICCIOLI	Rangue II
Pneumo-phthisiologie	M. ALBAREDE J.L.	Purpen
Pneumo-phthisiologie	M. JOVER	Rangue II
Physiologie	M. BESOMBES	Purpen
Psychiatrie	M. MORON	Rangue II
Radiologie	M. MANELFE	Rangue II
Radiologie	M. PUTOS	Purpen
Rhumatologie	M. FOURNIE A.	Purpen
Rééducation Fonctionnelle et Hydrologie	M. FABIE	Rangue II
Stomatologie		
Thérapeutique, Réanimation Médicale	M. SALVADOR	Purpen
Urologie	M. PONTONNIER P.	Purpen

AGREGES LIBRES

Chirurgie Générale	M. SOUQUET	Purpen
Pathologie Expérimentale	M. GLEIZES	Purpen
Obstétrique	M. ESPAGNO G.	Rangue II

ADMINISTRATION

Secrétaire Général de l'Université	M. PRIMEAU
------------------------------------	------------

Liste arrêtée le 8 Mai 1974

Je dédie ce travail

A ma femme Christine et à notre fils Julien,
en gage d'amour,

A mes parents,
en témoignage de ma grande affection et de ma
reconnaissance,

A mon frère Michel,

A mon oncle, le Docteur A. Etchats,

A ma famille,

A ma belle-famille,

A mes Amis et à ceux qui me sont Chers,

meis et amicis.

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT
DU JURY DE THESE

Monsieur le Professeur R. AUVERGNAT

Professeur de Biophysique
Docteur ès-Sciences
Officier de la Légion d'Honneur
Directeur du Laboratoire de Police Scientifique

Depuis douze ans, au cours de nos études pharmaceutiques puis de nos études médicales, nous avons bénéficié de votre enseignement et de vos conseils éclairés.

Mais bien plus, au-delà des connaissances livresques, vous avez été un Maître bienveillant à l'école de la vie. Vos leçons avaient noms : sagesse, modestie, bonté...

Aussi, serez-vous toujours, à nos yeux, un exemple auquel nous vouons une grande admiration.

Nous sommes fiers de nous compter parmi vos élèves, et tenons à vous assurer de notre fidèle attachement et de nos sentiments très respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur J.M. SUC

Professeur de Médecine Générale et de Thérapeutique
Médecin des Hôpitaux
Chef du Service de Néphrologie

Avec une grande bienveillance
vous avez accepté de juger ce travail.
L'intérêt qu'il a pu susciter chez
l'éminent néphrologue que vous êtes,
représente pour nous une grande satisfaction.

Nous voulons vous remercier
pour l'accueil chaleureux que vous nous
avez toujours réservé dans votre Service,
ainsi que pour les encouragements que
vous nous avez prodigués.

Soyez assuré de notre gratitude
et de notre respectueuse considération.

Monsieur le Professeur R. GUIRAUD

Professeur de Biophysique
Biologiste des Hôpitaux
Chef du Service Central d'Explorations Fonctionnelles
par les Radioisotopes

Pour avoir le privilège de bénéficier de vos conseils et de vos connaissances, dans cette science encore nouvelle qu'est la Médecine Nucléaire, nous mesurons pleinement l'honneur que vous nous faites en nous intégrant parmi vos proches collaborateurs.

Nous tenons à vous remercier
pour la sollicitude dont vous avez
toujours fait preuve à notre égard,
tout spécialement au cours de ce travail,
et à vous témoigner de notre respectueux dévouement.

Monsieur le Professeur J. CONTE
Maître de Conférences Agrégé de Néphrologie
Médecin des Hôpitaux
Chef du Service d'Hémodialyse Périodique

Nous souhaitons remercier en
vous : le Praticien auquel notre
reconnaissance est acquise, l'En-
seignant véritable modèle pédagogique,
l'Instigateur de cette Thèse...

mais aussi, l'Homme qui nous
a accueilli, conseillé et guidé dans
ce travail.

Soyez assuré de notre gratitude
et de notre respectueuse considération.

Monsieur le Professeur J. CRÔS
Maître de Conférences Agrégé de Pharmacodynamie
UER des Sciences Pharmaceutiques

Nous avons trouvé, près de
vous, il y a déjà longtemps, estime,
franchise et amitié, dans le cadre
d'un enseignement rigoureux.

C'est avec un vif plaisir que
nous vous retrouvons aujourd'hui
parmi nos Maîtres, et que nous vous
témoignons nos sentiments respectueux.

Que ce travail soit l'occasion d'exprimer notre reconnaissance à tous ceux qui nous ont aidé.

Monsieur le Docteur P. SERRES
Chef de Travaux- Assistant des Hôpitaux

dont les connaissances médicales et scientifiques, les qualités humaines, le bon sens, nous ont toujours entouré.

Monsieur le Docteur D. DURAND
Chef de Clinique - Assistant des Hôpitaux

dont les compétences médicales mais aussi isotopiques ont assuré une meilleure cohésion à l'ensemble de ce travail.

Monsieur le Docteur B. DANET
Assistant de Faculté - Assistant des Hôpitaux

sans le dévouement amical, les compétences mathématiques et l'ingéniosité duquel, ce travail aurait été impossible.

Monsieur J. FABRE
Assistant de Faculté - Assistant des Hôpitaux

dont les conseils et les suggestions nous ont aidé à la réalisation de ce travail.

Monsieur le Docteur P. ROUZAUD
Assistant de Faculté

dont l'amitié fidèle et généreuse, les qualités humaines, médicales et scientifiques nous ont toujours été si précieuses.

Madame le Docteur MIGNON-CONTE
Chargée de recherches INSERM

à qui nous devons les examens anatomo-pathologiques.

Monsieur le Docteur B. BONEU
Chef de Travaux - Assistant des Hôpitaux

à qui nous devons l'exploration de l'Hémostase.

A Monsieur Bertrand ROUZAUD,
ami fidèle de toujours

A tous nos amis du Service de Biophysique
et du Service Central d'Explorations Fonctionnelles
par les Radioisotopes

A Mademoiselle P. BERGUA["]
pour la part importante qu'elle a prise
à la réalisation de cette Thèse.

A notre groupe de sujets témoins volontaires.

INTRODUCTION

- 6 -

Le rôle des dépôts de fibrine en pathologie rénale est connu de longue date, que cette pathologie soit d'origine artériolaire, glomérulaire ou tubulaire et quelle que soit la phase aiguë ou chronique de l'affection.

Ces phénomènes que l'on redécouvre à l'aide des techniques modernes d'investigation, après une période d'oubli, sont en fait à replacer dans le cadre des réactions élémentaires que nous enseigne l'anatomie pathologique. En particulier, l'inflammation, mécanisme réactionnel de base de l'organisme, est à l'origine d'une infiltration cellulaire d'origine hémotogène, de l'apparition d'une pathologie de dépôt (dépôts de fibrine) et enfin d'une réaction cellulaire de prolifération.

Le fait que les méthodes d'études traditionnelles, la microscopie optique en particulier, soient le plus souvent mises en défaut lors de la recherche des dépôts minimes de fibrine, a grandement contribué à l'abandon relatif dans lequel ont sombré ces notions classiques. A l'opposé, les progrès de la technologie, les possibilités de méthodes d'observation beaucoup plus fines, comme la microscopie électronique et la microscopie en immunofluorescence, ont suscité un regain d'intérêt pour ces éléments de base.

Cependant, l'apport de ces techniques histologiques modernes n'est pas pleinement satisfaisant, car les renseignements qu'elles nous fournissent sont des instantanés, le plus souvent décalés dans le temps du phénomène physiopathologique initial ou essentiel, instantanés qu'il n'est pas possible de renouveler aussi souvent qu'on le souhaiterait, du fait de la nécessité d'une ponction biopsie du rein pour l'obtention du matériel à étudier.

De même, l'étude du bilan d'hémostase, à la recherche de signes évocateurs d'une coagulation intravasculaire, bien que très séduisante sur le plan théorique n'apporte pas dans ce type de pathologie, où la coagulation se limite à des sites très localisés, les renseignements précis qui la rendent

irremplaçable dans les phénomènes dont la pathogénie est comparable mais de caractère plus intense et disséminé (coagulation intravasculaire disséminée ou systémique : CIVD).

Aussi, depuis 1970, STRAUB (58), WARDLE (68) et SALAMAN (55) ont-ils songé aux possibilités nouvelles qu'offre la Médecine Nucléaire, l'utilisation du fibrinogène radioactif comme traceur paraissant être une technique sensible, fidèle, élégante, pour appréhender les phénomènes de coagulation localisée, au niveau du rein tout spécialement.

Le but des auteurs utilisant les techniques isotopiques est en réalité triple :

- mise en évidence des dépôts de fibrine et évaluation de leur part de responsabilité dans le déterminisme et l'évolution des lésions rénales,
- appréciation de l'efficacité des thérapeutiques proposées,
- comparaison des résultats fournis par les méthodes d'études traditionnelles et par cette technique originale.

Le travail que nous présentons, relatif à l'exploration des phénomènes de coagulation intrarénale, chez 30 patients atteints de néphropathies, repose sur la confrontation de trois types de données :

- données isotopiques, qui constituent la partie originale de cette thèse,
- données anatomopathologiques, basées essentiellement sur l'examen de coupes rénales en immunofluorescence,
- données du bilan d'hémostase, à la recherche de stigmates biologiques de coagulation intravasculaire.

Une tentative d'établissement de corrélations, entre ces trois sources d'information, chez les patients répartis en trois groupes : insuffisance rénale aiguë, insuffisance rénale chronique avancée, et glomérulonéphrites d'origines diverses, constitue la démarche finale.

- 0 -

L'état des travaux, concernant l'exploration des phénomènes de coagulation intrarénale à l'aide du fibrinogène radioactif, est simple à dresser. En effet, peu d'auteurs ont abordé ce problème.

STRAUB (58) a particulièrement étudié les phénomènes de coagulation intravasculaire localisée ou disséminée,

mais il présente seulement 4 observations relatives à la néphrologie (3 rejets de greffe rénale, et 1 glomérulonéphrite aiguë).

SALAMAN (55), s'intéresse exclusivement à la détection du rejet de greffe rénale par comptage externe d'organes.

WARDLE (70), est incontestablement l'auteur qui présente les résultats les plus probants. Son expérience porte sur une centaine d'observations, recouvrant les différents aspects de la pathologie rénale. En fait, ses travaux nous tiendront lieu de référence.

Enfin, récemment ARDAILLOU (3) a rapporté les résultats isotopiques d'une série de patients très diaphragmée, concernant uniquement l'insuffisance rénale chronique.

D'une façon synthétique, on peut résumer les données de la littérature de la façon suivante :

° Dans le cadre de la pathologie d'origine vasculaire, l'utilisation des techniques isotopiques confirme de façon éclatante les conceptions pathogéniques fondées sur les études anatomopathologiques et biologiques, avec dans un domaine bien particulier, et d'actualité, le rejet de greffe rénale, la preuve irréfutable, d'un dépôt de fibrine (STRAUB (58), WARDLE (69) SALAMAN (55)).

° Dans le cadre de la pathologie d'origine tubulaire les résultats sont tout aussi convaincants. Ils corroborent les données expérimentales et cliniques, et offrent une perspective physiopathologique très intéressante dans l'insuffisance rénale aiguë, en faisant jouer à l'occlusion de la microcirculation rénale et du filtre glomérulaire par les dépôts de fibrine, le rôle de mécanisme additionnel au phénomène essentiel qu'est la vasoconstriction des vaisseaux corticaux du rein (WARDLE (70)).

° Dans le cadre de la pathologie d'origine glomérulaire, les résultats sont moins probants. Si d'une façon globale, dans les affections tant aiguës que chroniques du glomérule, le rôle des dépôts de fibrine, pressenti par les investigations histologiques et biologiques classiques, semble confirmé par cette méthode nouvelle d'exploration (WARDLE (70)), il subsiste encore des inconnues, des discussions, qu'une étude de séries plus importantes et aussi plus homogènes de glomérulopathies devrait bientôt lever.

PREMIERE PARTIE

- ° -

RAPPELS SUR LE METABOLISME DU FIBRINOGENE

Le fait que la technique isotopique d'exploration des phénomènes de coagulation utilise le fibrinogène marqué comme radiotracteur, nous amène à rappeler très schématiquement les éléments essentiels concernant son métabolisme ainsi que son incidence dans les phénomènes de coagulation, éléments qui justifient son emploi dans cette exploration.

Les recherches de ces dernières années ont fait progresser nos connaissances sur cette glycoprotéine plasmatique, dont la biosynthèse est à présent bien connue mais dont le catabolisme pose toujours d'intrigantes questions.

Le fibrinogène, localisé au plasma sanguin où son taux normal varie de 2 à 4 g/l, est synthétisé par le foie. Le lieu de synthèse a été confirmé *in vitro* par l'étude de coupes de parenchyme hépatique en immunofluorescence et en immunoprécipitation (57). Des études d'incubation de coupes de foie montrent également que la production hépatique quotidienne est d'environ 1,65 g de fibrinogène, production qui peut être augmentée lorsque les conditions l'exigent (jusqu'à 6 fois plus). Ces éléments sont confirmés par des travaux récents portant sur le renouvellement de cette protéine (1). Des expériences de perfusion du parenchyme hépatique, avec des perfusats de teneur variable en fibrinogène mettent en évidence que le taux de production hépatique est régulé par la concentration en fibrinogène du perfusat (48).

Nous ne connaissons pas d'une façon précise les voies qu'emprunte le catabolisme normal du fibrinogène chez l'homme. En 1956, ASTRUP (4) a émis l'hypothèse que, dans les conditions physiologiques, il existe un équilibre dynamique entre la coagulation, qui dépose en permanence un film de fibrine sur l'endothélium vasculaire pour colmater ses éventuels défauts, et la fibrinolyse, qui dégrade ce film de fibrine après qu'il ait assumé ses

fonctions. Cette hypothèse s'appuie sur l'observation d'un renouvellement beaucoup plus rapide des facteurs plasmatiques de la coagulation, et du fibrinogène en particulier, que des autres protéines plasmatiques. Le fait que les perturbations de l'hémostase physiologique, soit dans le sens d'une hypercoagulabilité, soit dans le sens d'une hyperfibrinolyse, s'accompagnent d'une accélération de la cinétique du fibrinogène, va en faveur de l'hypothèse d'ASTRUP (4).

Les travaux récents de COLLEN et Col. (19) remettent en question le mécanisme du catabolisme normal du fibrinogène proposé par ASTRUP (4). En effet, ces auteurs reprenant des travaux plus anciens (40) (26), ont clairement montré que ni l'héparinisation, ni l'inhibition de l'activité fibrinolytique normale par l'acide tranexamique, ne modifient de façon appréciable, chez le sujet sain, la cinétique du fibrinogène. Ceci amène à conclure que la coagulation intravasculaire physiologique et/ou la fibrinogénolyse physiologique ne sont pas les voies essentielles du catabolisme normal du fibrinogène.

Les corrélations entre l'excrétion urinaire quotidienne de la radioactivité, et de la radioactivité plasmatique moyenne du jour correspondant, telles qu'elles ont été établies par Mc FARLANE (45) et TAKEDA (59), au cours d'études de la cinétique du fibrinogène suggèrent fortement que son catabolisme se déroule soit dans le compartiment intravasculaire, soit en des sites encore mal connus, s'échangeant rapidement avec lui. Ces travaux suggèrent également que le fibrinogène est catabolisé directement, sans transformation en fibrine, ou alors que dans l'éventualité où le catabolisme normal du fibrinogène passerait par la formation de fibrine en quantité importante, celle-ci serait très vite dégradée. De plus, l'absence dans les conditions physiologiques de produits de dégradation de la fibrine en quantité appréciable dans le sang, incline à penser que le catabolisme normal du fibrinogène est un processus intracellulaire, comme le remarque justement REGOECZI (51).

L'explication la plus vraisemblable du catabolisme normal du fibrinogène est qu'il s'agit d'un processus intracellulaire, se déroulant dans les cellules endothéliales, lors du passage à leur travers par pinocytose du fibrinogène, allant du compartiment intra-vasculaire vers le compartiment extravasculaire (19).

La participation du fibrinogène dans l'hémostase se fait lors de ses phases ultimes : fibrinoformation puis fibrinolyse.

La fibrinoformation est la troisième et dernière phase du temps plasmatique de l'hémostase. Elle a lieu sous l'action de la thrombine, terme des deux phases précédentes (thromboplastinoformation et thrombinoformation). La coagulation normale du fibrinogène sous l'action de la thrombine s'opère en trois temps :

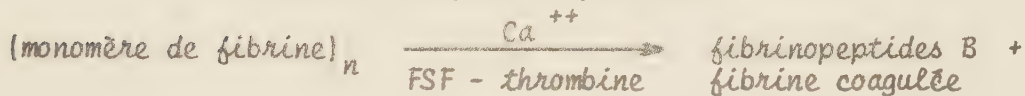
- 1er temps : libération de fibrinopeptides A, et formation de monomères de fibrine :



- 2ème temps : polymérisation réversible des monomères de fibrine, par agglomération bout à bout et latéro-latérale, donnant un produit soluble dans une solution d'urée à 5 %.



- 3ème temps : formation d'un réseau de fibrine visible ou coagulum final, en présence de calcium ionisé et de facteur XIII (Facteur Stabilisant de la Fibrine) après que la thrombine ait détaché les fibrinopeptides B du produit précédent.



La fibrinolyse, dernière étape de l'hémostase, est normalement destinée à repermeabiliser le caillot formé dans un vaisseau. Très schématiquement, on peut dire que la fibrinolyse ressemble étroitement à la coagulation, l'enzyme qui va dégrader la fibrine ou le fibrinogène est la plasmine. Elle provient d'un précurseur inactif le plasminogène. Cette activation du plasminogène en plasmine est soumise à une double régulation de la part d'activateurs et d'anti-activateurs. La dégradation du fibrinogène ou de la fibrine aboutit à la formation de fragments peptidiques appelés produits de dégradation de la fibrine (PDF). Selon l'importance de la digestion enzymatique, on décrit des catégories de PDF de poids moléculaires différents, comme le rappelle la figure 1.

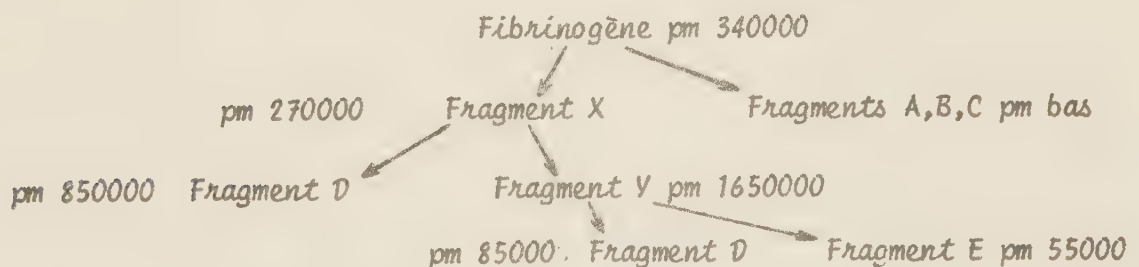


Figure 1.

Ces PDF sont normalement dans le sang à une concentration telle (inférieure à 10 $\mu\text{g/ml}$) que les techniques de recherche et de dosage habituelles ne les détectent pas (technique de MERSKEY (46)).

Ces notions fondamentales ont été volontairement réduites aux éléments indispensables pour la compréhension de notre méthode d'exploration des phénomènes de coagulation intrarénale.

DEUXIEME PARTIE

- o -

METHODOLOGIE

La méthode d'exploration des phénomènes de coagulation intra-rénale, par le fibrinogène radioactif, consiste en une étude cinétique complétée de comptages externes d'organes.

Cette deuxième partie comprendra 3 chapitres :

- . Chapitre I : Exposé de la méthode,*
 - . Chapitre II : Vérification et discussion de la méthodologie,*
 - . Chapitre III : Résultats normaux - Discussion.*
-

CHAPITRE I

- ° -

EXPOSE DE LA METHODE

1.1. Le radiotraceur

La participation des dépôts de fibrine en pathologie rénale a été étudiée à l'aide d'un traceur radioactif intervenant dans le phénomène de coagulation : le fibrinogène marqué à l'iode 131. Ce radiotraceur nous a été fourni par le Centre National de Transfusion Sanguine de Paris (CNTS) *.

1.2. Isolement, purification et marquage du fibrinogène

1.2.1. Isolement et purification du fibrinogène

Le fibrinogène délivré par le CNTS provient d'un pool de plasma frais de 10 donneurs, chez lesquels la recherche de l'antigène Australie est négative (technique radioimmunologique en phase-liquide).

L'isolement et la purification de cette glycoprotéine plasmatique sont réalisés selon la technique de "JACQUES" qui consiste à traiter le plasma frais par de l'hydroxyde d'aluminium (adsorption du fibrinogène sur gel d'alumine). Le fibrinogène isolé est repris dans une solution de NaCl 0,3 M, et dialysé contre cette même solution pendant une nuit. Le fibrinogène isolé et purifié est alors conservé à très basse température (- 60°).

1.2.2. Marquage du fibrinogène

Le fibrinogène étant une protéine fragile, extrêmement sensible aux agressions physiques et chimiques, il est capital

* CNTS de Paris, 6, rue Alexandre Cabanel, 75 Paris 15ème.

que les manipulations d'extraction et surtout de marquage ne le dénaturent pas. C'est là une des conditions requises afin qu'il conserve ses qualités de traceur idéal.

Pour le marquage du fibrinogène, il est utilisé une technique dérivée de la technique de GREENWOOD et HUNTER (27) (31), à la chloramine T, décrite initialement pour l'iodation de la Human Growth Hormon. Le CNTS a mis au point une variante "adoucie" de la technique à la chloramine T, le temps de contact avec ce puissant oxydant étant réduit de façon à minimiser le risque de dénaturation de la protéine. Le radioiode 131, provenant du Commissariat à l'Energie Atomique (Saclay), est purifié par extraction dans le chloroforme. Le fibrinogène, contenant l'agent oxydant, est ensuite mis en contact avec la solution de chloroforme iodé. Le temps de contact est adapté de façon telle que le taux d'iodation soit inférieur à 0,5 atome d'iode par molécule de fibrinogène, conformément aux prescriptions de Mc FARLANE (44), dans le but d'éviter le risque de dénaturation du radiotraceur. La fixation de l'iode radioactif se fait, à pH basique, sous la forme d'iode cationique oxydé à l'état I^+ , au niveau des groupements électronégatifs de la protéine, essentiellement sur les groupements tyrosyls.

Après iodation, le fibrinogène marqué est dialysé pour éliminer l'excédent de radioiode non fixé sur la protéine. Il est conservé congelé, expédié sous emballage isotherme et doit être décongelé lentement (bain marie à 37°) dans les instants qui précèdent son utilisation.

1.3. Caractères du fibrinogène radioactif utilisé

Finalement, les caractères du produit utilisé sont les suivants :

- taux d'iodation de l'ordre de 0,05 atome d'iode par molécule de fibrinogène,
- fraction coagulable par la thrombine de l'ordre de 90 %,
- recherche de la présence de facteur XIII (FSF) négative,
- pourcentage d'iode libre inférieur à 3 %, ce pourcentage d'iode libre est déterminé par deux méthodes :
 - rhéoelectrophorèse,
 - précipitation du fibrinogène par l'acide trichloracétique à 10 %, et évaluation du radioiode libre dans le surnageant.

1.4. Réalisation pratique de l'exploration

L'exploration isotopique consiste en une étude de la

cinétique du fibrinogène , complétée par des comptages externes sur les aires rénales.

1.4.1. Préparation des sujets soumis à l'exploration

La seule condition préalable à l'exploration isotopique du métabolisme du fibrinogène est la saturation de la thyroïde, de façon à éviter la fixation d'iode radioactif provenant de la dégradation du radiotraceur. Le blocage de la thyroïde est obtenu par l'administration de soluté de Lugol à la dose de XV gouttes 3 fois par jour, en commençant 2 jours avant le début de l'exploration et en poursuivant tout au long de celle-ci. En cas d'intolérance digestive au soluté iodo-ioduré fort, nous substituons à ce dernier la prise de gélules d'iodure de potassium à 75 mg, à la posologie de 2 gélules par jour.

1.4.2. Injection du fibrinogène radioactif

Le fibrinogène radioactif est présenté sous une concentration radioactive de 100 microcuries/ml, à la date prévue de l'examen. Après décongélation lente, une activité comprise entre 50 et 100 microcuries d'iode 131, déterminée en fonction du poids et de l'âge, est administrée au sujet. L'injection intraveineuse très soigneuse est réalisée dans une veine du pli du coude. La seringue d'injection est rincée à deux reprises avec le sang du sujet, de façon à ce que l'activité subsistant sur ses parois et non injectée au patient soit la plus faible possible.

1.4.3. Dilution étalon

Une quantité de fibrinogène radioactif, correspondant au quart de l'activité injectée au patient, est prélevée dans les mêmes conditions, et introduite dans une fiole jaugée de 1 litre contenant du sérum physiologique. La seringue est également rincée à deux reprises avec le sérum physiologique. Cette dilution étalon servira à l'appréciation du volume plasmatique.

1.4.4. Recueil d'échantillons, durée de l'épreuve

C'est à l'aide d'échantillons sanguins et urinaires que nous réalisons l'étude du métabolisme du fibrinogène.

Les échantillons sanguins de 5 ml sont prélevés sur tube sec oxalaté additionné de 2 gouttes d'Iniprol, substance antifibrinolytique, puis centrifugés 10 minutes à 4000 tours/minute. Le premier jour, on effectue une série de 3 prélèvements, aux 5^{ème}, 10^{ème} et 15^{ème} minutes suivant l'injection, sur une veine du bras

opposé à celui de l'injection. Les jours suivants, et jusqu'au 7^{ème} ou 9^{ème} jour, on effectue un seul prélèvement sanguin quotidien.

Les échantillons urinaires proviennent des urines du nycthémère. Celles-ci sont soigneusement recueillies, mélangées, homogénéisées. Le volume de la diurèse est exactement mesuré et une partie aliquote de 10 ml est conservée au réfrigérateur. Ce recueil complet des urines, sur une période de une semaine, est très difficile à obtenir des sujets soumis à l'exploration, et hypothèque la validité du taux de catabolisme fractionnel apprécié par la méthode des clearances métaboliques.

Tous les échantillons récupérés sont conservés au réfrigérateur, et comptés en fin d'expérimentation pour éviter les corrections de décroissance radioactive.

1.4.5. Comptage des échantillons

Les prélèvements sanguins font l'objet d'un double comptage :

- comptage de l'activité de 1 ml de plasma obtenu par centrifugation des échantillons sanguins,
- comptage de l'activité du produit de coagulation par la thrombine de 1 ml de plasma.

Pour discriminer ces deux types d'activité intravasculaire, à partir des échantillons plasmatiques, nous avons effectué la manipulation suivante : 1 ml de plasma additionné de 2 ml de tampon phosphate à pH 5,9 est coagulé par 0,5 ml de thrombase ISH * à 100 UM/ml et laissé 2 heures à la température de la pièce. Le caillot est alors recueilli sur papier "Joseph", lavé à 2 reprises avec 5 ml de sérum physiologique, exprimé de son contenu, dissout dans 1 ml d'urée alcaline et enfin compté.

Pour les prélèvements urinaires, les comptages sont effectués sur une prise d'essai de 3 ml. La connaissance de la diurèse permet, grâce à une simple règle de trois, d'obtenir la valeur de l'activité totale excrétée dans les urines d'une période de 24 heures.

Les échantillons sanguins et urinaires, ainsi que la dilution étalon sont comptés en fin d'expérimentation à l'aide d'un passeur automatique d'échantillons PACKARD ** Modèle 5024. Il est utilisé un prétemps de 5 minutes ou un précompte de 20000 coups,

* Laboratoire de l'ISH, 97 rue de Vaugirard, 75279 Paris Cedex 06

** PACKARD, 10 rue de la Grosse Pierre, 94533 Rungis.

la soustraction du mouvement propre étant automatique. Les résultats sont exprimés en coups par minute (cpm).

1.4.6. Comptages externes d'organes

Quotidiennement, on effectue sur les aires rénales des comptages externes, le sujet étant en procubitus. La région précordiale sert de référence et donne la valeur 100 % ou 1. Une élévation du taux de comptage sur une aire rénale, rapporté au taux de comptage sur la région précordiale, au-dessus de 120 % ou de 1,2 indiquerait une coagulation à l'intérieur du rein considéré (58) (55) (72).

Ces comptages sont effectués sur une période de 200 secondes à l'aide :

- d'une sonde à scintillation, munie d'un cristal d'iodure de sodium activé au thallium de 2 pouces de diamètre, collimatée et munie d'un précollimateur cylindrique de 4 cm de diamètre,
- d'une électronique associée SAIP^{*} modèle SPM 3, comportant un spectromètre monocanal et une échelle de comptage.

1.5. Exploitation des données expérimentales

Sur le plan métabolique, les données expérimentales dont nous disposons se résument aux valeurs des activités sanguines et urinaires des différents prélèvements. Il convient, dans un premier temps, de rappeler certains éléments de base, permettant d'aborder par le détail la description des différentes phases de notre méthode d'exploitation des données expérimentales.

1.5.1. Bases théoriques et mathématiques

Choix d'un modèle compartimental

Conformément aux données de la littérature (3) (19) (58) (70), nous avons adopté le modèle mamillaire à deux compartiments comme représentatif du métabolisme du fibrinogène (Fig. 2).

* SAIP, 27 bis, rue Leplanquais, 92 Malakoff

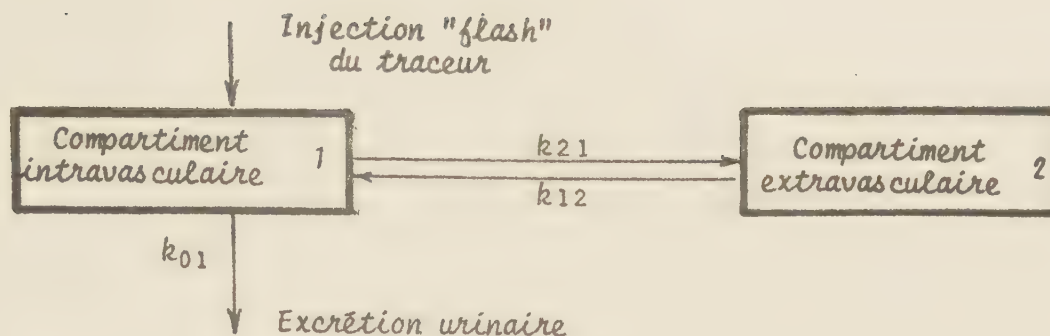


Fig. 2

Résolution mathématique du modèle mamillaire ouvert à deux compartiments

Les compartiments intravasculaire et extravasculaire communiquent entre eux par des échanges bidirectionnels, dont les taux de transfert respectifs sont k_{12} et k_{21} .

Le compartiment intravasculaire reçoit l'injection "flash" du traceur, de plus, il est alimenté par le milieu extérieur au système et réévacue une partie de la substance mère dans ce milieu extérieur au système, avec un taux de transfert k_{01} .
Si l'on appelle :

- . Q , le taux constant de fibrinogène froid,
- . q , le taux variable du fibrinogène marqué,
- . a , l'activité spécifique dans un compartiment,

l'évolution, en fonction du temps, de l'activité spécifique dans les compartiments 1 et 2 peut s'écrire :

$$\begin{cases} \frac{dq_1}{dt} = k_{12} \cdot q_2 - k_{21} \cdot q_1 - k_{01} q_1 \\ \frac{dq_2}{dt} = k_{21} \cdot q_1 - k_{12} \cdot q_2 \end{cases}$$

ou

$$\begin{cases} Q_1 \cdot \frac{da_1}{dt} = k_{12} a_2 Q_2 - k_{21} a_1 Q_1 - k_{01} a_1 Q_1 \\ Q_2 \cdot \frac{da_2}{dt} = k_{21} a_1 Q_1 - k_{12} a_2 Q_2 \end{cases}$$

ou encore :

$$\begin{cases} \frac{da_1}{dt} = k_{12}a_2 \frac{Q_2}{Q_1} - k_{21}a_1 - k_{01}a_1 \\ \frac{da_2}{dt} = k_{21}a_1 \frac{Q_1}{Q_2} - k_{12}a_2 \end{cases} \quad \begin{array}{l} \text{avec pour conditions ini-} \\ \text{tiales :} \\ \text{au temps } t = 0 \\ a_1 \longrightarrow a_1(0) \\ a_2 \longrightarrow a_2(0) = 0 \end{array}$$

On est donc amené à résoudre un système de deux équations différentielles dont les solutions sont :

$$a_1 = x_1 e^{-\lambda_1 t} + x_2 e^{-\lambda_2 t} \quad a_2 = x_3 (e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t})$$

avec

$$x_1 = \frac{a_1(0) \cdot (\lambda_1 - k_{12})}{\lambda_1 - \lambda_2} \quad x_2 = \frac{a_1(0) \cdot (k_{12} - \lambda_2)}{\lambda_1 - \lambda_2} \quad x_3 = \frac{a_1(0) \cdot k_{21} Q_1}{(\lambda_1 - \lambda_2) \cdot Q_2}$$

$$\text{et } \lambda_1, \lambda_2 = \frac{k_{12} + k_{21} + k_{01} \pm \sqrt{(k_{21} + k_{12} + k_{01})^2 - 4k_{12}k_{01}}}{2}$$

La figure 3 rappelle l'ensemble des paramètres, caractérisant le système mamillaire, et présente l'aspect théorique des courbes d'activité spécifique des compartiments intra et extravasculaire.

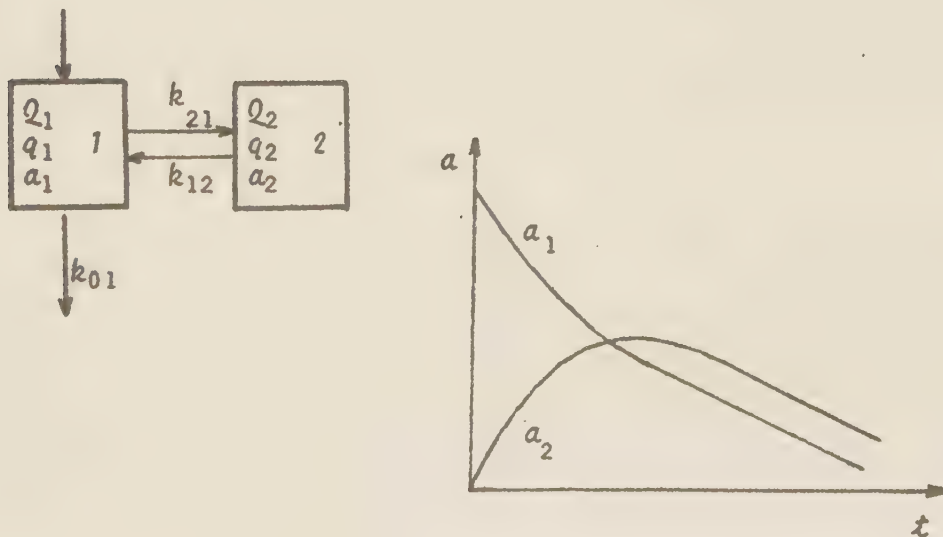


Fig. 3

1.5.2. Méthode d'exploitation des données expérimentales

Les valeurs des activités sanguines et urinaires des différents prélèvements sont utilisées grâce à un programme adéquat sur une calculatrice Helwett Packard modèle 9810 A⁺.

En premier lieu, l'extrapolation au temps zéro en coordonnées semi-logarithmiques des activités de 1 ml de plasma provenant des 3 prélèvements précoces (5^{ème}, 10^{ème}, 15^{ème} minutes) donne accès à la valeur de l'activité de 1 ml de plasma au temps initial. Cette dernière valeur présente un double intérêt :

- elle permet la détermination du volume plasmatique, suivant le principe de dilution isotopique, en fonction de la valeur fournie par la dilution étalon, conformément aux travaux ayant établi une bonne concordance entre les méthodes classiques de mesure du volume plasmatique et l'utilisation du fibrinogène radioactif à cette fin (2).

- elle permet, connaissant le volume plasmatique, de calculer l'activité totale administrée aux patients au temps initial, en effectuant le produit de ces deux éléments. Tous les comptages d'échantillons seront ensuite rapportés à l'activité totale administrée et exprimés en pourcentage de celle-ci.

L'établissement des courbes d'activité plasmatique et d'activité urinaire est réalisé par le programme, en effectuant le produit de la valeur de l'activité de 1 ml de plasma ou de 1 ml d'urine par le volume plasmatique ou par le volume urinaire du jour correspondant, le résultat étant exprimé en pourcentage de l'activité totale administrée aux patients au temps initial.

Les courbes d'activité plasmatique sont ensuite lissées suivant la méthode des moindres carrés, soumises à l'analyse exponentielle, la calculatrice fournissant pour chaque composante l'ordonnée à l'origine C exprimée en pourcentage, ainsi que le temps de demi-décroissance T1/2, qui permet de connaître le décrement logarithmique b de ces composantes suivant la relation :

$$b = \text{Log}2/T1/2 = 0,693/T1/2$$

Disposant des courbes d'activité plasmatique et d'activité urinaire, nous avons, dans un premier temps, adopté une méthode d'exploitation des données expérimentales assez sophistiquée, suivant en cela certains auteurs STRAUB (58) BLOMBACK (8) AMRIS (2) COLLEN (19). La construction à partir des courbes d'activité plasmatique et d'activité urinaire d'un édifice complexe, dont nous donnerons une description sommaire, permet en effet de définir de nombreux paramètres significatifs du métabolisme de fibrinogène. Dans un deuxième temps, devant sa lourdeur et l'incertitude des rensei-

* Helwett Packard , Quartier de Courtaboeuf .B.P.6, 91401 ORSAV

gnements qu'elle fournit, suivant en cela d'autres auteurs (WARDLE (70) et ARDAILLON (3) en particulier, nous l'avons abandonnée au profit d'une méthode beaucoup plus simple, se limitant à l'étude de la courbe d'activité plasmatique. Celle-ci permet en effet, moyennant le choix d'un modèle compartimental adéquat, d'obtenir les paramètres essentiels.

Méthode complète d'exploitation des données expérimentales

Les éléments de base sont la courbe d'activité plasmatique et la courbe d'activité urinaire. Ils permettent de définir de nouvelles courbes qui ne revêtent aucun caractère expérimental et sont purement spéculatives :

◦ courbe d'activité totale retenue (ATR) : établie en retranchant quotidiennement de l'activité totale administrée (100 %), l'activité excrétée dans les urines exprimée en pourcentage de celle-ci. La courbe d'ATR est d'allure monoexponentielle, elle part de la valeur 100 % au temps zéro et décroît avec une pente sensiblement égale à celle de la composante lente de la courbe d'activité plasmatique.

◦ courbe de distribution (D) : obtenue en exprimant quotidiennement l'activité intravasculaire non plus en pourcentage de l'activité totale administrée, mais en pourcentage de l'activité totale retenue au jour correspondant. Elle représente donc la proportion de traceur subsistant encore dans l'organisme, qui se trouve dans le compartiment intravasculaire. En coordonnées semi-logarithmiques, cette courbe est représentée par une droite sensiblement horizontale chez les sujets normaux. Par contre, dans les cas où existe une consommation accrue de fibrinogène, elle deviendrait décroissante avec une pente qui serait le reflet grossier de l'intensité du phénomène, traduisant ainsi l'inégale répartition du fibrinogène au profit des foyers de consommation et aux dépens du pool circulant rapidement échangeable.

◦ courbe d'activité extravasculaire (AEV) : obtenue en soustrayant quotidiennement de l'activité totale retenue l'activité intravasculaire. Elle permet d'appréhender le compartiment extravasculaire qui n'est pas accessible aux prélèvements d'échantillons. Cette courbe part d'une valeur nulle au temps zéro, est d'abord croissante pour atteindre un maximum se situant entre la 24^{ième} et la 72^{ième} heures suivant l'injection du traceur, puis décroissante avec une pente comparable à celles de la composante lente de la courbe d'activité plasmatique, et de la courbe d'activité totale retenue. L'acmé de la courbe d'activité extravasculaire correspond à un instant privilégié : le temps d'équilibre. A cet instant, et à cet instant seulement, les activités spécifiques des compartiments intra et extravasculaire sont égales, ce qui permet de caractériser d'une façon quantitative le compartiment extravasculaire.

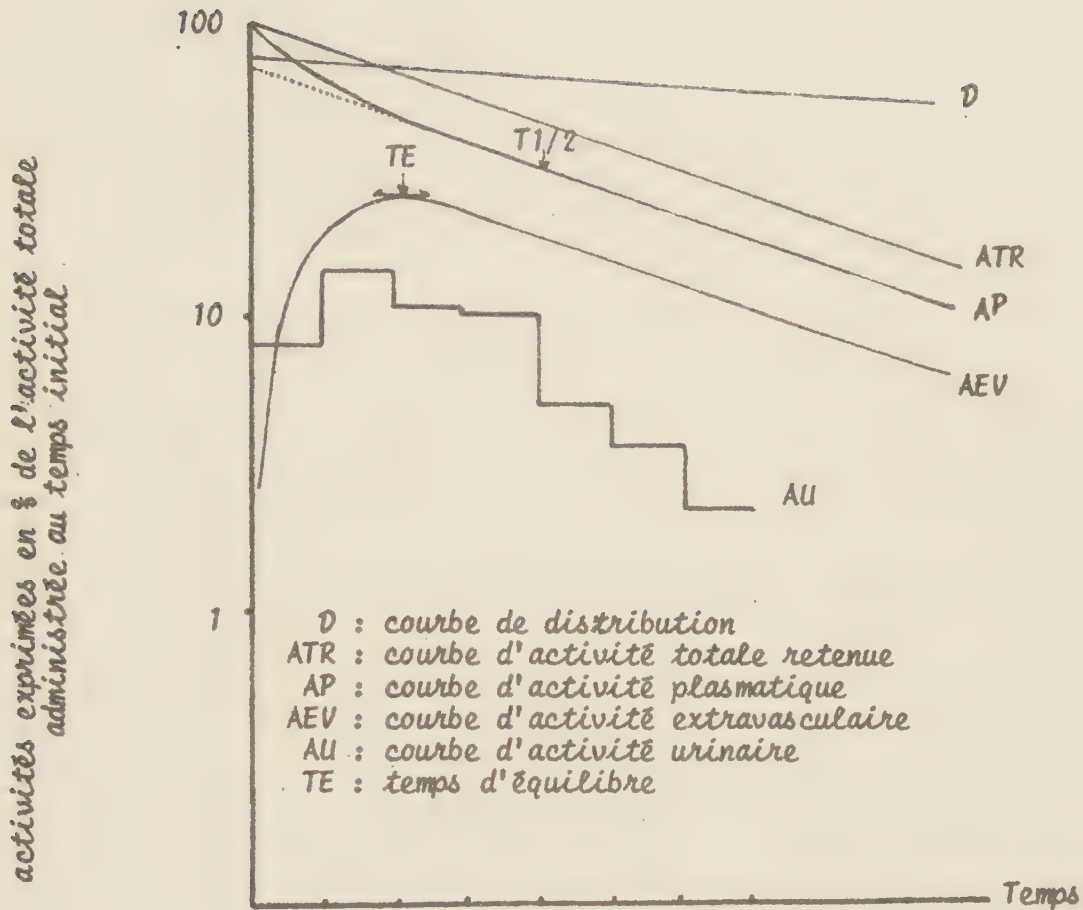


Fig. 4

A partir de cet ensemble de courbes, dont un exemple est présenté sur la figure 4, on peut obtenir de nombreux paramètres caractérisant le métabolisme du fibrinogène.

◦ Période biologique ou demi-vie ($T_{1/2}$) du fibrinogène dans le plasma, exprimée en unités de temps, représente le temps de demi-décroissance de la composante lente de la courbe d'activité plasmatique.

◦ Taux de catabolisme du fibrinogène :

. Taux de catabolisme fractionnel (TCF) apprécié ici par la méthode des clearances métaboliques de PEARSON (49), représentant le pourcentage de fibrinogène du pool intravasculaire excrété

quotidiennement dans les urines, exprimé en pourcentage du pool intravasculaire par unités de temps.

. Taux de turnover absolu, représentant l'application du TCF au fibrinogène total plasmatique (FTP), exprimé en unités de masse par unités de temps et par kilogramme de poids du sujet. Le FTP en mg/kg représente le produit du volume plasmatique (VP) en ml/kg par la fibrinémie (F) en mg/ml :

$$FTP = VP \times F$$

• Appréciation quantitative des pools :

. A partir de la courbe de distribution :

- pourcentage intravasculaire du fibrinogène : représenté par l'intersection de la courbe de distribution avec l'axe des ordonnées, exprimé en pourcentage de l'activité totale administrée ou de l'activité totale retenue qui sont confondues au temps initial,

- pool de fibrinogène rapidement échangeable exprimé en mg par kilogramme de poids du sujet et obtenu par la relation suivante :

$$\frac{FTP \cdot 100}{\% \text{ TV déterminé à partir de la courbe de distribution}}$$

. A partir de la relation au temps d'équilibre :

- pourcentage de fibrinogène intravasculaire au temps d'équilibre, exprimé cette fois ci en pourcentage de l'activité totale retenue suivant la relation :

$$\frac{\text{activité intravasculaire}}{\text{activité totale retenue}} \cdot 100$$

(représente la valeur de la courbe de distribution au temps d'équilibre).

- pool intravasculaire de fibrinogène ou pool de fibrinogène total plus fibrine exprimé en mg/kilogramme de poids du sujet suivant la relation :

$$\frac{FTP \cdot 100}{\% \text{ TV au temps d'équilibre}}$$

Ce pool intravasculaire de fibrinogène est différent du pool de fibrinogène rapidement échangeable puisqu'il comprend tout le fibrinogène et la fibrine intravasculaire, c'est-à-dire le fibrinogène libre circulant rapidement échangeable plus le fibrinogène et/ou la fibrine non rapidement échangeable, participant notamment aux phénomènes de coagulation intravasculaire physiologiques ou pathologiques.

- pool de fibrine, représentant la différence des deux pools précédents, exprimé en mg/kilogramme de poids du sujet.

- pool extravasculaire de fibrinogène : les activités spécifiques dans le compartiment intravasculaire et extravasculaire étant égales au temps d'équilibre, les niveaux d'activité, exprimés en pourcentage de l'activité totale administrée, donnent accès à ce moment là, à la valeur du rapport des pools intravasculaire et extravasculaire. Connaissant la dimension du pool intravasculaire, on peut apprécier celle du pool extravasculaire, avec le même système d'unités.

Méthode simplifiée d'exploitation des données expérimentales

Nous avons donc abandonné la méthode complète pour recourir à une méthode beaucoup plus simple, se limitant au traitement de la courbe d'activité intravasculaire. En effet, les travaux classiques de MATTHEWS (42), puis plus récemment de ATTENCIO (5) et WALDMAN (67), ont montré que l'on peut établir la valeur numérique des différents taux de transfert k_{21} , k_{12} , k_{01} ainsi que la valeur du rapport des pools intra et extravasculaires en fonction des ordonnées à l'origine C_1 et C_2 et des décroissements logarithmiques b_1 et b_2 des composantes lentes (indice 1) et rapides (indice 2), des courbes d'activité intravasculaire.

Sans revenir sur les différentes et complexes phases de calcul permettant de passer de la résolution mathématique du modèle ouvert à deux compartiments mamillaire, à l'expression des paramètres en fonction des ordonnées à l'origine et des décroissements logarithmiques, nous rappellerons simplement les formules exprimant la valeur de ces paramètres :

$$k_{21} = \frac{C_1 C_2 (b_2 - b_1)^2}{(C_1 + C_2) (C_1 b_2 + C_2 b_1)}$$

$$k_{12} = \frac{C_1 b_2 + C_2 b_1}{C_1 + C_2}$$

$$k_{01} = \frac{b_1 b_2 (C_1 + C_2)}{b_1 C_2 + b_2 C_1}$$

$$\frac{\text{Pool EV}}{\text{Pool IV}} = \frac{C_2 (b_2 - b_1)}{b_1 C_2 + b_2 C_1}$$

L'activité intravasculaire peut être envisagée sous 2 aspects :

- o activité coagulable par la thrombine, c'est-à-dire activité liée à du fibrinogène indemne de toute participation aux phénomènes de coagulation ou de fibrinolyse, dont l'étude est hautement évocatrice du métabolisme du fibrinogène,

- o activité plasmatique, qui associe à la précédente l'activité liée au radioiode libre circulant et l'activité liée à des produits de catabolisme du fibrinogène porteurs de radioiode.

A partir de ces activités, il a été établi des courbes d'activité plasmatique et d'activité coagulable par la thrombine. Pour des raisons qui seront évoquées au chapitre réservé à la discussion de la méthodologie, c'est au moyen des courbes d'activité plasmatique, lissées et soumises à l'analyse exponentielle, que nous avons évalué les paramètres précédemment cités.

Enfin, parmi les nombreux paramètres caractéristiques du métabolisme du fibrinogène déjà définis, dans un but de simplification et aussi du fait que ces éléments apparemment très différents résultent souvent de la modification de l'élément précédent par un opérateur numérique, nous avons retenu seulement 2 paramètres : le T1/2 et le TCF. Dans la méthode simplifiée d'exploitation des données expérimentales, la signification et le mode d'expression du T1/2 ne changent pas. Par contre, le TCF assimilable au k_{01} du modèle mamillaire, revêt une signification légèrement différente : il représente le pourcentage de fibrinogène du pool intravasculaire qui est excrété et/ou catabolisé quotidiennement, et non plus seulement le pourcentage du fibrinogène excrété quotidiennement comme dans la méthode des clearances métaboliques. Dans un groupe de sujets témoins, où le recueil des urines était irréprochable, nous avons cependant établi l'existence d'une très bonne concordance entre ces 2 modes de calcul du TCF. Par la suite, chez les sujets pathologiques dont les recueils d'urine laissaient souvent à désirer, et aussi pour alléger le protocole expérimental, nous avons apprécié le TCF par analyse mathématique des courbes d'activité plasmatique.

CHAPITRE II

- o -

VERIFICATIONS ET DISCUSSION DE LA METHODOLOGIE

Sans engager de discussions byzanthines sur la théorie des traceurs et sur la théorie compartimentale, nous devons cependant, nous attarder sur certains problèmes et les envisager d'une façon critique.

2.1. Choix du traceur et du marqueur

Il est sûr que pour étudier les phénomènes de coagulation, aussi bien disséminée que localisée, le fibrinogène, qui est un des facteurs plasmatiques de la coagulation, représente, lorsqu'il est marqué au moyen d'un isotope radioactif, le traceur de choix.

Le problème du traceur résolu, encore que certains auteurs (13) aient préconisé une méthode plus complexe, étudiant à la fois le devenir du fibrinogène radioactif et des plaquettes marquées au sélénium 75, reste à discuter la question du marqueur. A l'heure actuelle, sont commercialisées des préparations de fibrinogène marqué à l'iode 131 ou à l'iode 125.

Notre choix s'est porté sur l'iode 131 pour les raisons suivantes :

- ° Des travaux récents ont clairement établi, lors d'études métaboliques comparatives réalisées avec du fibrinogène marqué à l'iode 131 d'une part, et du fibrinogène marqué à l'iode 125 d'autre part, que les résultats sont parfaitement concordants (19).

- ° La période physique de l'iode 131 (8,07 jours) est beaucoup

plus courte que celle de l'iode 125 (59,9 jours). A cet égard, le fibrinogène marqué à l'iode 131 se prête moins bien à la conservation et au stockage que son homologue marqué à l'iode 125. Mais le système de livraison hebdomadaire, très régulier, assuré par le CNTS de Paris, tempère beaucoup cette critique. L'argument majeur que l'on pourrait opposer à l'utilisation du fibrinogène marqué à l'iode 131, réside dans le fait que, pour une étude métabolique de longue durée, l'activité à injecter serait plus importante que si l'on utilisait l'homologue marqué à l'iode 125. De fait, notre protocole expérimental ne se prolongeant jamais au-delà de neuf jours, l'activité injectée n'a jamais excédé 100 microcuries, avec une valeur moyenne de 60 microcuries. En effectuant les comptages d'échantillons dès la fin de l'épreuve, les niveaux d'activité sont très satisfaisants.

◦ L'émission γ de l'iode 131 (série de raies dont les plus importantes sont à 0,364 MeV et 0,637 MeV), le rend plus apte aux comptages externes d'organes que l'iode 125, beaucoup moins énergétique (émission γ à 0,035 MeV). De ce fait, les auteurs qui effectuent des comptages sur les aires rénales, notamment pour la détection du rejet de greffe rénale, utilisent de préférence le fibrinogène marqué à l'iode 131 (55) (56).

On voit donc que l'élément déterminant, dans notre décision de retenir le fibrinogène marqué à l'iode 131, a été la réalisation des comptages externes d'organes.

2.2. Risques inhérents à la méthode

On doit discuter ici deux problèmes :

- problème des risques liés au marqueur radioactif : irradiation du sujet, et de la thyroïde en particulier,
- problème des risques liés au traceur : essentiellement la possibilité de transmission d'une hépatite virale.

2.2.1. Risques liés au marqueur (Iode 131)

L'activité injectée est comprise entre 50 et 100 microcuries d'iode 131, avec une valeur moyenne de 60 microcuries, c'est-à-dire voisine de celle administrée dans l'exploration thyroïdienne de routine. Cette activité, autrefois réputée inoffensive pour le sujet, n'est pas négligeable.

La question des risques liés au marqueur revêt un double aspect :

- irradiation globale du sujet,
- irradiation préférentielle de la thyroïde, du fait de sa grande affinité pour l'iode.

Le problème de l'irradiation globale du sujet, à la suite d'une injection de fibrinogène marqué à l'iode 131, est mal connu. En effet, nous ne trouvons pas dans la littérature d'étude relative aux effets radiobiologiques de cette protéine marquée. On doit cependant remarquer, avec JARNUM (32), que la dose d'irradiation par microcurie injecté, sera inférieure lors de l'utilisation de fibrinogène marqué que lors de l'utilisation de sérum-albumine marquée avec le même radioisotope, le taux de dégradation du fibrinogène étant supérieur à celui de la sérum-albumine. A titre indicatif, nous rappellerons la dose d'irradiation globale pour un adulte de 70 kilogrammes :

- lors de l'injection de 35 microcuries de sérum-albumine marquée à l'iode 131 : 120 mrad,
- lors de l'injection de 35 microcuries de sérum-albumine marquée à l'iode 125 : 30 mrad.

Sur le plan des risques liés au marqueur, il serait donc préférable d'utiliser le fibrinogène marqué à l'iode 125.

Le problème de la thyroïde est délicat à considérer. En effet, les sujets examinés avaient reçu du Lugol avant et pendant l'épreuve, en vue de saturer leur thyroïde. Les sujets pathologiques avaient subi, le plus souvent, des examens radiologiques utilisant des produits de contraste iodés (urographie intraveineuse, artériographie rénale). Aussi, grande a été notre surprise, lorsque des comptages externes effectués sur la thyroïde, aussi bien chez des sujets témoins que chez des sujets pathologiques, nous ont montré la captation de l'iode 131 par celle-ci. Cette captation a été confirmée par la scintigraphie à la gamma caméra, qui nous a montré une image thyroïdienne classique. D'autres équipes utilisant le fibrinogène marqué à l'iode 131 ont observé le même phénomène (10). Le risque pour la thyroïde est minime, certainement négligeable, puisqu'elle ne fixe qu'une très faible fraction de l'activité injectée (le radioiode libre).

Cette observation est assez surprenante. Elle va à l'encontre de communications récentes (25) (50), qui avancent que la thyroïde est saturée de façon très rapide (une demi-heure), totale et durable, après l'administration orale d'iode. Ceci serait évidemment très intéressant, lorsqu'on désire administrer de l'iode radioactif, à visée non thyroïdienne, à un sujet dont la thyroïde n'est pas saturée. Il suffirait d'administrer per os 100 mg d'iodure de potassium, d'attendre seulement une demi-heure et non deux jours comme le faisons, avant d'injecter le radioiode.

2.2.2. Risque lié au traceur (molécule de fibrinogène)

La possibilité de transmission d'une hépatite virale n'est pas négligeable, en effet, le virus SH (Sérum Homologue) semble intimement lié à la molécule de fibrinogène. Pour minimiser ce risque, le CNTS réalise l'isolement du fibrinogène à partir d'un

pool de donneurs toujours inférieur à 10, chez lesquels la recherche de l'antigène Australie est effectuée systématiquement par une technique radioimmunologique en phase liquide (52). Dans la série de témoins et de patients que nous avons étudiés, il n'y a pas eu, à notre connaissance, d'hépatite d'inoculation. Une perspective d'avenir à cet égard, consiste en l'utilisation de fibrinogène radio-actif autologue, comme le proposent plusieurs auteurs (53) (13), ce qui évidemment éliminerait tout risque d'hépatite d'inoculation.

2.3. Choix de la technique de marquage

Le fibrinogène est la protéine plasmatique la plus sensible aux agressions physiques et chimiques. Il est capital, comme nous l'avons déjà dit, que les opérations d'isolement, de purification et surtout de marquage ne le dénaturent pas.

Certains auteurs (13) ont avancé que la seule méthode de marquage, propre à fournir un produit de qualité pour des études métaboliques, consiste en un marquage de précurseurs du fibrinogène qui seront incorporés dans la molécule lors de sa biosynthèse (acides aminés marqués au C^{14} , au S^{35} ou au Se^{75} : sélénométhionine par exemple). En fait, cette méthode de marquage *in vivo* n'est que rarement utilisée (13), de plus elle présente le grave défaut de voir les acides aminés marqués, libérés par le catabolisme du fibrinogène, être réutilisés, ce qui amène à sous estimer le taux de dégradation du fibrinogène.

Depuis les travaux de Mc FARLANE en 1958 (44), les techniques de marquage du fibrinogène opèrent *in vitro* et utilisent comme radioéléments soit l'iode 131 soit l'iode 125. Il est démontré, qu'avec une technique adéquate, le fibrinogène peut être marqué sans altération de la molécule, à condition que le taux d'iodation ne soit pas supérieur à 0,5 atome d'iode par molécule. Plus récemment, d'autres auteurs, BLONBACK en particulier (8), n'ont pas trouvé de différence significative dans le devenir biologique de lots différents de fibrinogène, ayant des taux d'iodation de 0,5 à 2,7 atomes d'iode, par molécule de fibrinogène.

Il existe 4 méthodes différentes de marquage des protéines :

- méthode de Mc FARLANE au monochlorure d'iode (44), qui est la méthode de référence,
- méthode électrolytique de ROSA (54),
- méthode enzymatique à la lactopéroxydase de THORELL (60),
- méthode de GREENWOOD et HUNTER (27) à la chloramine T, qui est la méthode utilisée par le CNTS dans une version modifiée, moins agressive.

Une étude comparative de préparations de fibrinogène radioiodé, marquées par ces différentes méthodes a été réalisée récemment par des auteurs américains (47). Leur préférence va à la méthode de Mc FARLANE, Ils critiquent sévèrement la méthode à la chloramine T, lui reprochant son agressivité, avec pour conséquences une hydrolyse rapide et un taux d'iode libre important.

A l'opposé, un autre groupe d'auteurs américains accorde sa confiance à la méthode à la chloramine T, au prix de quelques modifications rendant cette technique, qui rappelons-le était initialement destinée aux hormones en vue de leur dosage radioimmunologique, propre au marquage d'une protéine fragile comme le fibrinogène (53).

Nous avons envisagé ces problèmes et nous pensons que le fibrinogène utilisé dans ce travail est tout à fait apte à jouer le rôle de traceur dans des études métaboliques (confère paragraphe suivant).

2.4. Teneur en radioiode libre des préparations utilisées

Si le fibrinogène radioiodé a été conservé correctement, c'est-à-dire congelé, au moment de son utilisation après décongélation douce, le pourcentage d'iode libre est faible, inférieur à 3 %, comme le précise le CNTS dans ses fiches de contrôle.

Nous avons voulu aller plus loin, et savoir ce que devient ce pourcentage d'iode libre, lorsque la préparation décongelée est placée dans des conditions comparables à celles qu'elle rencontre dans l'organisme, mais en dehors de tout phénomène de coagulation ou de fibrinolyse. Pour ce faire, nous avons réalisé, sur 10 lots de fibrinogène radioactif, la manipulation suivante. Dans un flacon siliconé contenant 250 ml de sérum physiologique, on introduit 50 microcuries de fibrinogène radioactif (soit 0,5 ml de la préparation commerciale) et 500 mg de fibrinogène froid, destiné à jouer le rôle d'entraîneur dans les opérations ultérieures. Le fibrinogène est mis en solution par agitation au Vortex. Le flacon est placé à l'étuve à 37°. Quotidiennement, on effectue un prélèvement sur ce flacon :

- ° 1 ml de la solution de fibrinogène dans le sérum physiologique est compté,

- ° 5 ml de cette même solution sont précipités par l'acide trichloracétique de 10 %, en ayant soin d'ajouter de l'iodure de potassium qui complexera l'iode radioactif libre sous forme de KI_3 et évitera son adsorption sur les parois du tube ou sur le précipité. Après centrifugation, 1 ml de surnageant est prélevé et compté, dans les mêmes conditions que précédemment.

Le rapport du taux de comptage de 1 ml de surnageant au taux de comptage de 1 ml de la solution de fibrinogène, donne accès au pourcentage d'iode libre sur les prélèvements quotidiens, en tenant compte du facteur de dilution amené par l'acide trichloracétique.

Voici les valeurs moyennes des pourcentages d'iode libre que nous avons observées :

. 1er jour	:	1,75	% d'iode libre,
. 2ème jour	:	2,27	" "
. 3ème jour	:	2,69	" "
. 4ème jour	:	3,23	" "
. 5ème jour	:	3,94	" "
. 6ème jour	:	4,34	" "
. 7ème jour	:	4,60	" "
. 8ème jour	:	5,02	" "

Cette augmentation modérée, du pourcentage d'iode libre en fonction du temps, est un des éléments qui nous amène à considérer le fibrinogène radioactif produit par le CNTS, et la méthode à la chloramine T "adoucie", comme satisfaisants.

2.5. Discussion des méthodes d'exploitation des données expérimentales

2.5.1. Choix du modèle compartimental

Nous avons adopté, comme représentatif du métabolisme du fibrinogène, le modèle mamillaire ouvert à deux compartiments.

Les raisons de ce choix sont les suivantes :

◦ la courbe d'activité intravasculaire étant bi-exponentielle, l'adoption d'un modèle à deux compartiments s'impose : un compartiment intravasculaire et un compartiment extravasculaire sans substratum anatomique précis. La première composante exponentielle ou composante rapide correspondrait à la phase d'équilibration entre ces deux compartiments, alors que la seconde composante ou composante lente serait le reflet du métabolisme du fibrinogène (1).

◦ l'existence d'une fuite urinaire, qui d'ailleurs n'est peut-être pas exclusive puisque certains auteurs envisagent également des fuites fécales et sudorales (2), indique qu'il s'agit d'un système à deux compartiments ouverts.

◦ l'adoption du modèle mamillaire repose sur deux types d'arguments :

. argument logique : le bon sens veut que l'on situe les fuites urinaires sur le compartiment intravasculaire plutôt que

sur le compartiment extravasculaire, ce qui revient à adopter le modèle mamillaire de préférence au modèle caténaire (Fig. 5)

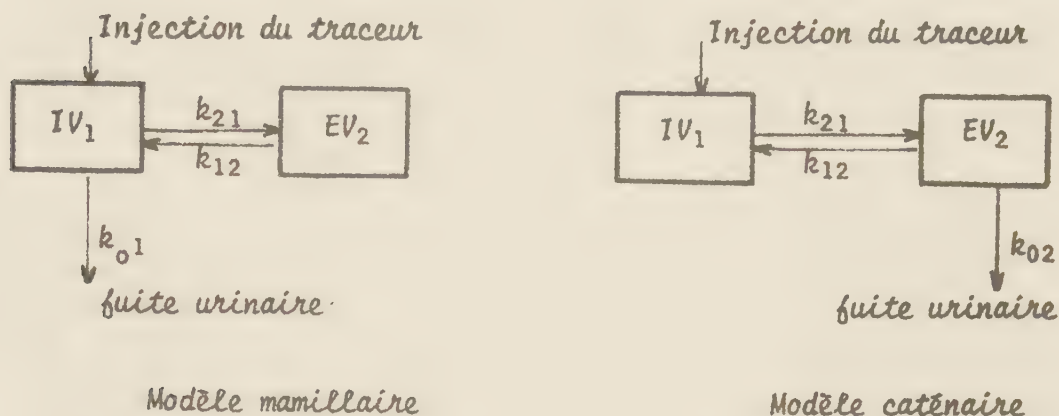


Figure 5

. argument expérimental : les courbes expérimentales permettent au moyen d'éléments simples, ordonnée à l'origine C et dérivée logarithmique b des deux composantes de la courbe d'activité intravasculaire, et de la connaissance de la résolution mathématique du modèle mamillaire ou caténaire, de calculer les différents paramètres dynamiques caractérisant le système : k_{21} , k_{12} , k_{01} dans le cas du modèle mamillaire k_{21} , k_{12} , k_{02} dans le cas du modèle caténaire. Nous avons à l'aide d'un calculateur analogique ELANAG*, pouvant simuler un modèle à deux compartiments soit mamillaire, soit caténaire, envoyé des informations à une table traçante ANALAC ** traceur XY 600 et comparé les courbes obtenues aux courbes expérimentales. Une bonne correspondance, entre ces deux types de courbes, a été obtenue uniquement dans le cas où le calculateur simule un modèle mamillaire et où les paramètres dynamiques k_{12} , k_{21} et k_{01} que nous lui imposons sont issus de l'application de la résolution mathématique du modèle mamillaire, aux données expérimentales.

Ces arguments expérimentaux confirment donc le bien fondé de l'adoption du modèle mamillaire ouvert à deux compartiments, comme représentatif du métabolisme du fibrinogène.

* ELANAG de l'Electronique appliquée 92 Montrouge -France

**ANALAC , 101, boulevard Murat , 75 Paris 16ième.

Ce modèle à deux compartiments est certainement une approche très simplifiée, COLLEN et Col (19) ont présenté, dans un appendice à leurs travaux sur le métabolisme normal du fibrinogène, un modèle plus complexe, qui aurait le mérite de mieux refléter le devenir du fibrinogène, aussi bien dans les conditions normales que dans les conditions pathologiques. Mais en fin de compte, ce modèle complexe à 6 compartiments, que nous rapportons ici (Fig. 5), peut se résumer par approximation à un modèle mamillaire ouvert à deux compartiments.

De plus, à notre connaissance, il n'y a pas d'équipe travaillant sur le métabolisme du fibrinogène qui ait adopté un modèle différent. Enfin, chez les sujets témoins la très bonne concordance, entre le TCF déterminé par la méthode expérimentale des clearances métaboliques et la méthode d'analyse exponentielle des courbes d'activité plasmatique, en appliquant à celles-ci la résolution mathématique du modèle mamillaire, est un élément supplémentaire pour l'adoption de ce système.

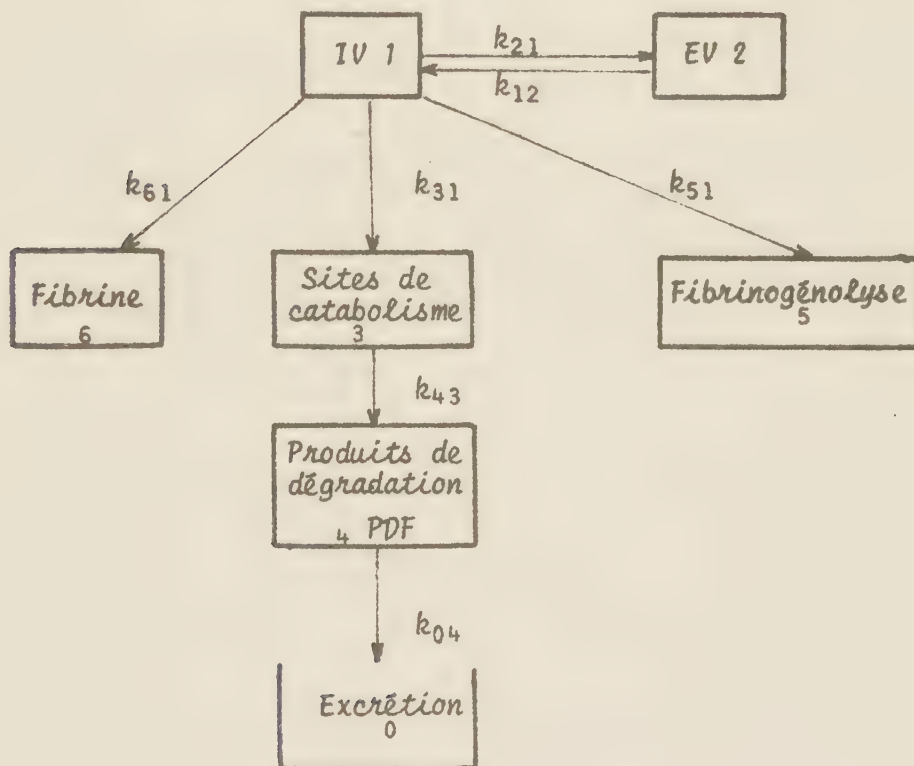


Figure 6

2.5.2. Choix entre les courbes d'activité plasmatique et d'activité coagulable par la thrombine

Il n'est pas douteux que la courbe d'activité coagulable par la thrombine soit, par sa composante lente représentative du métabolisme du fibrinogène. La courbe d'activité plasmatique, que nous avons adoptée pour le calcul des paramètres caractérisant le métabolisme du fibrinogène, est-elle tout aussi significative ?

Nous avons remarqué que ces 2 courbes, établies comparativement chez un même sujet (Fig. 7) ont des allures très voisines, des composantes lentes et rapides strictement parallèles de même période, de même décroissement logarithmique, dont les ordonnées à l'origine sont dans un même rapport. Certains auteurs notamment COLLEN et Col., dans leurs travaux sur le métabolisme normal et pathologique du fibrinogène, rapportent la même observation (19) (61).

La courbe d'activité plasmatique se trouve située au-dessus de la courbe d'activité coagulable par la thrombine. En effet, l'activité plasmatique peut être considérée comme la somme de 2 éléments :

- activité coagulable par la thrombine, c'est-à-dire activité liée à du fibrinogène indemne de tout phénomène de coagulation ou de dégradation,
- activité non coagulable par la thrombine, représentant la différence de niveau entre les deux courbes, elle-même d'origine double :
 - activité liée à la présence d'iode radioactif libre,
 - activité liée à la présence de produits de dégradation de la fibrine porteurs de radioiode.

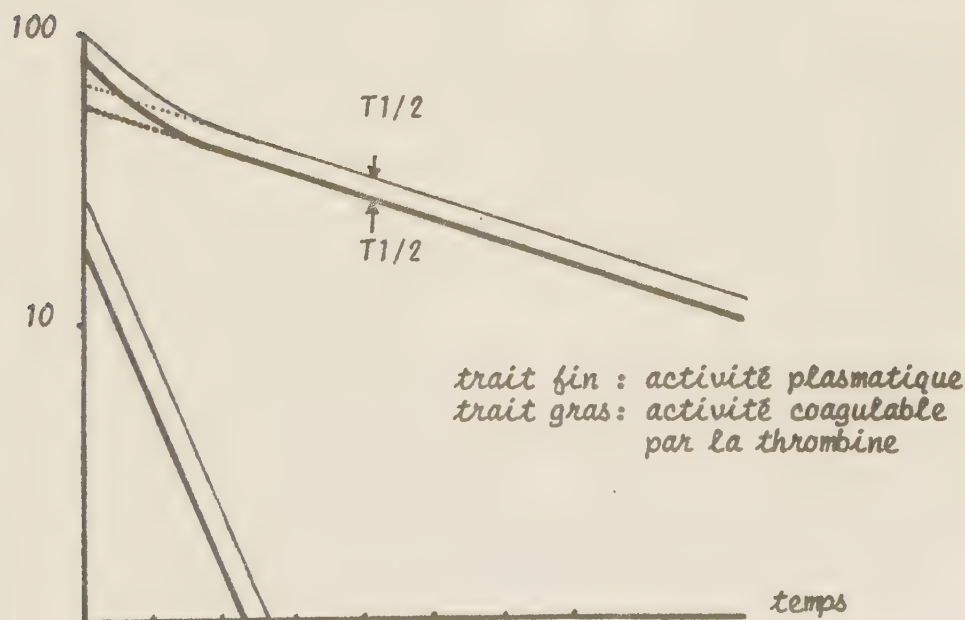


Figure 7.

On peut chiffrer la différence de niveau entre la courbe d'activité plasmatique et la courbe d'activité coagulable par la thrombine à 9 % en moyenne. Nous avons déjà discuté la part prise par l'iode libre dans cette différence de niveau. Le deuxième élément pouvant intervenir, la présence de produits de dégradation de la fibrine, porteurs d'iode radioactif, est quantitativement peu important. En effet, les sujets pathologiques ayant des PDF sériques les plus élevés (80 $\mu\text{g/ml}$ dans notre étude), ne présentent pas de dénivellation plus marquée entre les courbes d'activité plasmatique et d'activité coagulable par la thrombine que les sujets témoins dont les PDF sériques sont toujours inférieurs à 10 $\mu\text{g/ml}$.

Enfin, un dernier élément pourrait intervenir, c'est lors du marquage la participation de matériel dénaturé ou la contamination de protéines non coagulables par la thrombine. Ce phénomène a été récemment observé par BURY et Col. (15), Les raisons suivantes nous autorisent à penser que nous sommes à l'abri de ce dernier écueil :

- l'activité soluble dans l'acide trichloracétique est inférieure à 2 % lors de la décongélation du produit, donc le radioiode non lié aux protéines est inférieur à 2 %,

- il n'y a pas d'excrétion urinaire de la radioactivité très importante le premier jour, ceci confirme que le taux de radioiode libre est faible,

- le pourcentage de l'activité restant dans le compartiment intravasculaire au temps d'équilibre est important, de l'ordre de 70 %, la protéine n'a donc pas été dénaturée lors du marquage,

- après équilibration entre le compartiment intra et extra vasculaire la courbe d'activité plasmatique en coordonnées semi-logarithmiques est linéaire (composante lente). Le marquage n'a donc porté que sur une seule protéine,

- les courbes d'activité plasmatique et d'activité coagulable par la thrombine sont strictement parallèles, le marquage a donc intéressé un élément intervenant dans la coagulation après la thrombinoformation, en d'autres termes il n'y a pas eu contamination.

Tous ces éléments nous amènent à considérer que la courbe d'activité plasmatique est par sa composante lente représentative du métabolisme du fibrinogène.

2.5.3. Discussion du choix des paramètres retenus comme significatifs du métabolisme du fibrinogène

Lors de l'étude d'un phénomène de coagulation très localisée, comme c'est le cas dans la coagulation intrarénale, notre but, à l'aide des techniques isotopiques, est de mettre en évidence une consommation et un renouvellement accélérés du fibrinogène.

A cet égard, il n'est pas douteux que le paramètre le plus significatif soit le taux de catabolisme fractionnel qui représente le pourcentage de fibrinogène du pool intravasculaire catabolisé et/ou excrété quotidiennement. Si ce TCF est le paramètre le plus séduisant sur le plan théorique, sa détermination est par contre délicate et moins satisfaisante. En effet, la méthode des clearances métaboliques suppose un recueil d'urines parfait sur une période de 7 à 9 jours, ce qui est en pratique difficilement réalisable. La méthode d'analyse exponentielle des courbes d'activité plasmatique calcule la valeur du TCF à partir de l'ordonnée à l'origine C et du décrément logarithmique b des deux composantes de la courbe d'activité plasmatique. La composante lente et ses coefficients (C_1, b_1) sont obtenus avec une bonne précision, puisque 5 à 6 points expérimentaux nous permettent suivant la méthode des moindres carrés d'obtenir une droite théorique avec un coefficient de régression très satisfaisant. Il n'en va pas de même pour la composante rapide : nous ne disposons en effet pour cette partie de la courbe que de 2 ou 3 points expérimentaux, ce qui rend l'interprétation plus difficile et les coefficients C_2 et b_2 de la composante rapide plus critiquables. Cependant, dans un groupe de sujets témoins nous avons observé une bonne concordance entre ces deux méthodes d'appréciation du TCF. Il faut remarquer que ces sujets étaient particulièrement informés de l'importance d'un recueil d'urines parfait sur toute la durée de l'épreuve.

Ces deux éléments nous ont amené à considérer le $T_{1/2}$ comme paramètre le plus précis du métabolisme du fibrinogène. Il représente en effet, le temps de demi-décroissance de la composante lente de la courbe d'activité plasmatique, laquelle est obtenue dans des conditions expérimentales très satisfaisantes et est significative du métabolisme du fibrinogène (1).

Nous n'avons pas retenu les nombreux paramètres proposés par certains auteurs, que nous avons rappelés au chapitre Méthodologie. En effet, si la dimension des pools est un élément intéressant à considérer dans l'étude du métabolisme normal du fibrinogène et dans l'étude des phénomènes de coagulation très importants quantitativement (CIVD), son intérêt est beaucoup plus réduit dans l'étude des phénomènes de coagulation localisés. De même, le taux de turnover absolu ne présente pas à notre avis un intérêt majeur. Il résulte en effet de l'application du TCF en pourcentage, au pool intravasculaire de fibrinogène. Nous retrouverons, dans le paragraphe réservé à la discussion des patients en insuffisance rénale chronique, une illustration particulièrement démonstrative de ce dernier élément.

En conclusion, si le TCF est le paramètre qui paraît le plus intéressant à considérer les conditions pratiques font que c'est au $T_{1/2}$ que nous accordons le plus de crédit.

CHAPITRE III

- ° -

RESULTATS NORMAUX - DISCUSSION

3.1. Matériel témoin

Un groupe de sujets témoins nous a permis d'établir les valeurs normales des paramètres caractéristiques du métabolisme du fibrinogène, afin d'étalonner notre méthode et de comparer nos résultats à ceux de la littérature.

Ce groupe témoin est composé de 5 sujets volontaires, ayant subi le test en ambulatoire, chez lesquels les recueils d'urine, sur la période de 7 à 9 jours, peuvent être considérés comme parfaits.

L'ensemble est homogène, il comprend une femme et quatre hommes, dont les âges s'échelonnent de 23 à 31 ans, avec une moyenne de 28 ans, tous :

- non protéinuriques, indemnes de néphropathies,
- sans affection hépatique,
- ayant un bilan d'hémostase strictement normal,
- dont les antécédents sont dépourvus d'affections pouvant perturber le métabolisme du fibrinogène, notamment d'affections inflammatoires chroniques évolutives s'accompagnant d'une fibrinémie majorée.

3.2. Résultats

3.2.1. Comptages externes d'organes

Les comptages externes n'ont pas montré d'accumulation de la radioactivité sur les aires rénales, par contre dans certains cas, ils ont témoigné de la fixation de radioiode libre par la thyroïde.

3.2.2. Cinétique du fibrinogène

Les résultats sont présentés dans le tableau I, avec un nombre de paramètres restreint. Aux paramètres métaboliques T1/2 en jours et TCF en % du pool intravasculaire par jour, nous avons associé :

- la valeur moyenne de la fibrinémie en g/l,
- la valeur moyenne de la créatininémie en mg/l.

De plus, les sujets témoins présentent un bilan d'hémostase strictement normal, dépourvu de tout stigmate de coagulation intravasculaire.

La valeur moyenne des paramètres isotopiques a été calculée, ainsi que l'intervalle de confiance (IC) sur la moyenne au risque d'erreur de 5 %.

Dans notre série témoin, la demi-vie du fibrinogène est de $3,99 \pm 0,30$ jours et le taux de catabolisme fractionnel déterminé par analyse mathématique des courbes est de $25,3 \pm 4,4$ %/j.

TABEAU I

Observation	Fibrinémie	Creatininémie	Cinétique	
			T1/2	TCF
N°1	2,85	9	4,23	21,5
N°2	3,10	10	3,74	26,4
N°3	2,90	8	3,71	30,3
N°4	2,05	9	4,39	22,6
N°5	2,10	9	4,06	25,9
M $\pm$ IC			$\pm$ 3,99 $\pm$ 0,30	$\pm$ 25,3 $\pm$ 4,4

La figure 8 montre l'aspect d'une courbe d'activité plasmatique chez un sujet témoin, ainsi que sa décomposition exponentielle (cette courbe est à comparer avec l'ensemble des courbes d'activité totale retenue, d'activité plasmatique, d'activité urinaire, d'activité extravasculaire présentées pour le même sujet témoin au chapitre Méthodologie, figure 3).

3.3. Discussion des résultats normaux

Notre groupe de sujets témoins, s'il est réduit en nombre, a pour principale qualité le fait qu'il est composé de sujets strictement normaux, à l'opposé de ce que l'on rencontre chez la majorité des auteurs, qui présentent comme sujets témoins des patients hospitalisés, supposés indemnes de toute affection pouvant interférer sur le métabolisme du fibrinogène.

3.3.1. Comparaison avec les résultats retrouvés dans la littérature

Les valeurs normales des paramètres métaboliques (T_{1/2} et TCF) que nous avons établies sur une série de 5 sujets normaux, sont tout à fait comparables à celles rencontrées dans la littérature comme le résume le tableau II.

On doit remarquer, en particulier, que nos résultats sont très voisins de ceux de COLLEN et TYTGAT (19), Ceci est particulièrement satisfaisant, car ces auteurs travaillent depuis de longues années sur le métabolisme du fibrinogène, et sont parmi les seuls avec STRAUB (58) à détailler dans leurs articles la méthodologie employée, ce qui permet d'établir de meilleures comparaisons.

TABLEAU II

Auteurs	Nombre de sujets témoins	Isotope utilisé	T _{1/2} en jours	TCF en %/j
AMRIS (2)	3	I 131	4,25	19 à 23
COLLEN TYTGAT (19)	35	I 131 et 125	4,14 ± 0,56	+ 24 - 4
STRAUB (58)	6	I 131	3,9	22,8
WARDLE (70)	16	I 131 et 125	3,92 ± 0,45	21,8 ± 4,7
BLOMBÄCK (8)	17	I 131	4,5	
REGÖECZI (51)	12	I 125	4,10 ± 0,5	
ROBERTS (53)	6	I 125	4,03 ± 0,5	
ARDAILLOU (3)	5	I 125	3,85	
Résultats personnels	5	I 131	3,99 ± 0,3	25,3 ± 4,4

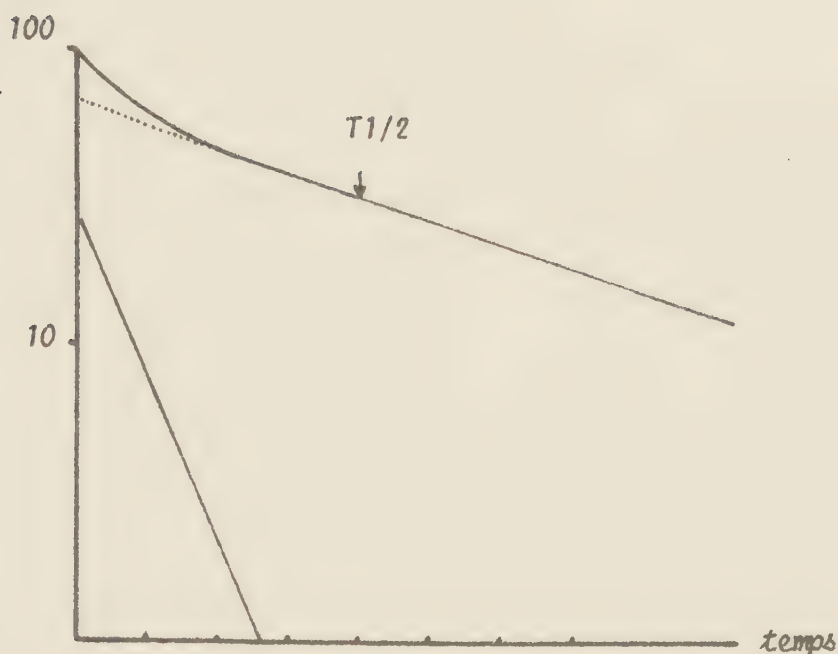


Figure 8

3.3.3 Comparaison du TCF déterminé par analyse exponentielle des courbes d'activité plasmatique et par la méthode des clearances métaboliques

Le tableau III montre que les valeurs obtenues sont très superposables : $25,3 \pm 4,4$ %/j par la méthode mathématique, $25,1 \pm 5,4$ %/j par la méthode des clearances métaboliques.

L'analyse statistique par paires (*t* paired), réalisée entre les deux séries de valeurs ne montre pas de différence significative. Il y a donc chez les sujets témoins, une concordance parfaite entre les deux méthodes d'appréciation du TCF.

Observations	TCF analyse exponentielle	TCF clearance métabolique	<i>t</i> paired
N°1	21,5	21,2	0,30
N°2	26,4	30	- 3,60
N°3	30,3	23,3	7
N°4	22,6	21,4	1,20
N°5	25,9	29,6	- 3,70
M $\pm$ IC	$25,3 \pm 4,4$	$25,1 \pm 5,4$	$0,24 \pm 5,44$

On doit remarquer que dans ce groupe de sujets témoins, les recueils d'urines ont été particulièrement minutieux.

TROISIEME PARTIE

- 0 -

APPLICATION DE LA METHODE A L'EXPLORATION DES NEPHROPATHIES

Reprenant les travaux de WARDIE, STRAUB et SALAMAN, nous avons à l'aide du fibrinogène radioactif tenté d'affirmer la participation des dépôts de fibrine dans certaines affections rénales.

Chez les sujets pathologiques, l'étude des phénomènes de coagulation intrarénale a été réalisée par une exploration triple :

- isotopique : étude de la cinétique du fibrinogène et comptages externes sur les aires rénales,
- hématologique : étude du bilan d'hémostase à la recherche de stigmates de coagulation intravasculaire,
- néphrologique : à la fois biologique et anatomopathologique.

Nous avons ensuite tenté d'établir des corrélations entre ces trois voies d'approche différentes, à l'intérieur de chaque groupe de néphropathies.

Cette troisième partie comprendra 3 chapitres :

- Chapitre I : Matériel pathologique,
 - Chapitre II : Méthodologie,
 - Chapitre III : Résultats et discussion des résultats chez les sujets pathologiques.
-

CHAPITRE 1

- o -

MATERIEL PATHOLOGIQUE

Nous avons étudié 26 malades, ce qui représente un total de 30 explorations du fait de la présence de 4 études itératives. Les résultats rapportés dans ce travail concernent seulement 20 des 26 malades. En effet, pour des raisons d'ordre technique (prélèvements coagulés, omission de prélèvements) les résultats de certains patients n'ont pu être interprétés.

Les sujets pathologiques ont été classés en 3 groupes :

- insuffisance rénale aiguë (IRA) : 2 malades,
- insuffisance rénale chronique avancée d'origines diverses (IRC) 6 malades,
- glomérulonéphrites (GN) : 12 malades, ce dernier groupe est hétérogène, il comprend :
 - 2 glomérulonéphrites lupiques,
 - 10 glomérulonéphrites primitives :
 - 5 glomérulonéphrites aiguës (3 streptococciques, 2 non streptococciques),
 - 5 glomérulonéphrites chroniques :
 - = 2 glomérulonéphrites chroniques extracapillaires,
 - = 3 glomérulonéphrites chroniques à dépôts mé-sangiaux.

1.1. Insuffisance rénale aiguë (2 observations)

Observation n°1 : Femme de 41 ans en IRA anurique d'origine toxique (trichloréthylène), dont l'évolution a été favo-

nable. L'exploration isotopique a été réalisée dans la semaine suivant l'intoxication. Cette patiente a subi une PBR interprétée en immuno-fluorescence.

Observation n° 2 : Homme de 50 ans, en IRA anurique dans un contexte de coagulation intravasculaire systémique franche. Ce patient, opéré les jours précédents d'un cancer du larynx, avait malencontreusement subi une transfusion incompatible. Il présentait un choc transfusionnel avec hémolyse sévère (hématocrite : 23 %, 2100000 de globules rouges à la FNS, hémoglobine plasmatique : 500 mg/l. La dialyse péritonéale a été indispensable. Ce patient n'a pas subi de PBR.

1.2. Insuffisance rénale chronique avancée (6 observations)

Observation n°1 : Femme de 66 ans, en IRC dont l'étiologie a été bien difficile à déterminer. L'histologie permet de penser qu'il s'agit d'une néphropathie interstitielle chronique, à nodules épithélioïdes dans le cadre d'une sarcoïdose. La PBR a été pratiquée mais n'a pas ramené de glomérules dans l'échantillon destiné à l'immuno-fluorescence.

Observation n°2 : Homme de 47 ans, en IRC liée à une néphropathie interstitielle chronique. Ce patient n'a pas subi de PBR.

Observation n°3 : Homme de 64 ans, en IRC d'emblée dépassée (oligo-anurique d'emblée), atteint de maladie de Kallher. Sur le plan isotopique, nous avons réalisé 2 explorations à un mois d'intervalle dont les résultats sont strictement comparables. La PBR a été pratiquée chez ce malade et interprétée en immuno-fluorescence.

Observation n°4 : Homme de 48 ans, en IRC avec une note vasculaire très sévère (TA à 25/15, FO au stade IV à l'entrée). L'exploration isotopique a été réalisée alors que le syndrome vasculaire avait très bien régressé du fait de la thérapeutique. Ce patient n'a pas subi de PBR.

Observation n°5 : Homme de 43 ans, en IRC liée à une néphropathie glomérulaire extracapillaire, associée à un syndrome vasculaire prononcé. De plus, se posait le problème d'une pancytopenie d'origine vraisemblablement centrale (médullaire). Ce patient avait subi une PBR un an auparavant, interprétée en immuno-fluorescence, dont nous rapportons les résultats.

Observation n°6 : Homme de 60 ans en IRC. L'histologie a permis de porter le diagnostic d'amylose rénale (secondaire à une bronchite chronique). La PBR a été réalisée, l'immuno-fluorescence également.

1.3. Glomérulonéphrites (12 observations)

1.3.1. Glomérulonéphrites lupiques (2 observations)

Observation n° 1 : Femme de 35 ans atteinte de Lupus erythémateux disséminé (LED). Au moment de l'exploration l'affection était en poussée aiguë, les signes généraux intenses, la participation articulaire, et surtout pleuropéricardique au premier plan, par contre l'atteinte rénale modérée se résumait à une protéinurie sans insuffisance rénale. Cette malade a subi une PBR interprétée en immunofluorescence.

Observation n° 2 : Femme de 48 ans présentant un LED également en poussée. Là aussi, les signes d'atteinte rénale étaient modérés, (protéinurie à l'état de trace) et les signes généraux ainsi que les manifestations articulaires occupaient le devant de la scène. Cette malade a subi une PBR interprétée en immunofluorescence.

1.3. 2. Glomérulonéphrites primitives (10 observations)

Glomérulonéphrites aiguës (5 observations)

Observation n° 1 : Homme de 21 ans présentant une GNA d'étiologie indéterminée (néphropathies glomérulaire proliférative endocapillaire), avec un degré d'insuffisance rénale modérée créatinine : 17 mg/l). Ce malade a subi une PBR interprétée en immunofluorescence.

Observation n° 2 : Homme de 42 ans présentant une néphropathie glomérulaire endo et extracapillaire, sévère, rapidement progressive. Ce malade a été exploré 2 fois, à une semaine d'intervalle. L'insuffisance rénale a nécessité, du fait d'une hyperkaliémie inquiétante, l'hémodialyse en cours d'exploration. La PBR a été réalisée et interprétée en immunofluorescence.

Observation n° 3 : Homme de 63 ans présentant une néphropathie glomérulaire aiguë sévère avec insuffisance rénale et manifestations d'angéite d'hyper-sensibilité. Le diagnostic d'abord hésitant devait, après qu'une périartérite noueuse eut été éliminée, se porter sur une GNA post-streptococcique avec angéite d'hyper-sensibilité (ASLO = 1000 u Todd). Nous avons réalisé l'exploration à 2 reprises chez ce malade :

. lors de la première exploration le sujet, en pleine phase aiguë, présentait des signes d'insuffisance cardiaque, des oedèmes importants, une hypertension artérielle,

. lors de la seconde exploration, un mois plus tard, l'amélioration clinique était très nette.

Ce patient n'a pas subi de PBR.

Observation n°4 : Homme de 22 ans présentant une GNA post-angineuse, post-streptococcique classique, avec une protéinurie et une hématurie microscopique modérées. Ce patient a subi une PBR interprétée en immunofluorescence.

Observation n°5 : Femme de 26 ans présentant une GNA post-angineuse post streptococcique, au quatrième mois de son évolution. La PBR pratiquée n'a pas ramené de glomérule.

Glomérulonéphrites chroniques (5 observations)

Glomérulonéphrites chroniques extracapillaires (2 observations)

Observation n°1 : Homme de 22 ans présentant une GN proliférative extracapillaire d'évolution prolongée (découverte il y a 2 ans). Au moment de l'exploration, il n'existait pas d'altération de la fonction rénale ni de syndrome vasculaire. La PBR pratiquée n'a pas ramené de glomérule.

Observation n°2 : Femme de 27 ans, présentant une GN proliférative extracapillaire, apparue au décours d'une angine, évoluant depuis huit ans. Sur le plan clinique au moment de l'exploration tout se résumait à une protéinurie permanente et isolée. La PBR a été pratiquée et examinée en immunofluorescence.

Glomérulonéphrites chroniques à dépôts mésangiaux (3 observations)

Observation n°1 : Homme de 21 ans présentant une néphropathie intercapillaire mésangiale à dépôts IgG et B₁C, de découverte assez récente. La PBR a été pratiquée et examinée en immunofluorescence.

Observation n°2 : Homme de 36 ans présentant une néphropathie glomérulaire ancienne à dépôts mésangiaux IgG IgA, s'accompagnant d'une note vasculaire sévère et d'un retentissement sur la fonction rénale. Ce malade avait subi 18 mois auparavant une PBR n'ayant pas ramené de glomérule, cet examen complémentaire n'a pas été renouvelé lors de la présente hospitalisation.

Observation n°3 : Homme de 25 ans présentant une néphropathie glomérulaire à dépôts mésangiaux de type IgG IgA évoluant depuis six ans. La fonction rénale était sensiblement normale, lors de notre exploration, seules une protéinurie et une hématurie microscopique rappelaient l'atteinte glomérulaire. La PBR a été pratiquée et examinée en immunofluorescence.

CHAPITRE II

- 0 -

METHODOLOGIE

L'exploration isotopique a déjà été présentée à propos des sujets témoins. Lors de son application aux sujets pathologiques elle n'a été en rien modifiée. On doit remarquer cependant que les patients ont moins bien accepté cette investigation longue, que les sujets témoins. En particulier, les recueils d'urine ont été le plus souvent imparfaits, et l'on doit signaler qu'un recueil d'urine incorrect sur une seule période de 24 heures, suffit pour enlever toute valeur à la méthode complète d'exploitation des données expérimentales.

Les aspects néphrologique et hématologique de l'exploration seront rapportés ici beaucoup plus brièvement que la partie isotopique, car ils ne constituent pas à proprement parler l'aspect original de ce travail.

2.1. Exploration de l'hémostase .

L'exploration de l'hémostase , à la recherche de stigmates biologiques de coagulation intra-vasculaire , a été pratiquée chez tous les sujets étudiés, témoins et malades. Dans le cadre de phénomènes de coagulation localisée, il ne faut pas s'attendre à rencontrer un tableau biologique aussi évocateur que dans les phénomènes de coagulation intravasculaire disséminée. En effet, s'il existe une hyperconsommation de facteurs de la coagulation, elle sera parfaitement compensée voire dépassée par un degré de synthèse hépatique accru. Dans ces conditions, le bilan d'hémostase reste le plus souvent normal, les seuls stigmates de coagulation

étant représentés par la présence de PDF et d'un test de paracoagulation positif, témoins indirects de l'hyperactivité thrombinique.

Le bilan d'hémostase de routine, réalisé par le Laboratoire d'Hémostase du Centre de Transfusion Sanguine (Professeur R. BIERME) comprenait les tests suivants :

- dosage du fibrinogène : réalisé selon deux méthodes différentes : méthode de thermoprécipitation et méthode de VON KLAUSS (microméthode chronométrique dérivée du temps de thrombine).
- numération des plaquettes réalisée à l'autoanalyseur Technicon,
- temps de Quick, temps de Howell, temps de céphaline-kaolin réalisés selon les techniques classiques,
- dosage de la prothrombine, de la proaccélélerine, et du complexe proconvertine-facteur Stuart réalisé selon les techniques classiques,
- temps de thrombine étudié suivant la technique de BIGGS et Mc FARLANE, et temps de reptilase étudié selon la technique de SORIA,
- consommation de prothrombine étudiée par la méthode de SOULIER,
- temps de lyse des euglobulines étudié par la technique de JONHSON,
- dosage des PDF sériques par la technique de MERSKEY ,
- test de paracoagulation à l'éthanol.

Les résultats seront présentés en tenant compte du taux de PDF sériques et d'une vision synthétique de ce bilan d'hémostase indiquant ou n'indiquant pas la participation d'un phénomène de coagulation intravasculaire.

2.2. Exploration néphrologique

Nos patients ont subi une exploration néphrologique à la fois biologique et anatomopathologique.

2.2.1. Exploration biologique

Parmi les nombreux paramètres biologiques que propose l'exploration fonctionnelle rénale, nous avons retenu celui qui à l'heure actuelle fait l'unanimité comme élément de débrouillage : le dosage de la créatininémie. Celle-ci est en effet, le reflet fidèle de la fonction glomérulaire. Le dosage a toujours été réalisé à l'Autochemist, les valeurs normales avec cette technique de dosage allant de 8 à 12 mg/l.

2.2.2. Exploration anatomopathologique

Une ponction biopsie du rein (PBR) a été pratiquée chez 16 des 26 sujets pathologiques.

Les coupes semi-fines (2 à 3 microns d'épaisseur) ont été étudiées en microscopie optique classique et en microscopie en immunofluorescence, à la recherche des dépôts de fibrine. Ces coupes ont été examinées à l'aide d'un microscope LEITZ Ortholux.

En microscopie optique, il a été utilisé les techniques de coloration suivantes :

- coloration de Mallory à l'acide phosphotungstique,
- coloration au trichrome de Masson (au vert lumière),
- coloration à l'argent méthénamine,
- coloration au PAS.

La microscopie en immunofluorescence revêt une toute autre importance dans le cadre de notre travail. Les coupes sont traitées par des immuns sérums marqués à l'isothiocyanate de fluorescéine. Ces immuns sérums, anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA, anti-C₃, antifibrine et antifibrinogène, dont la spécificité est vérifiée avant utilisation, sont préparés par les Laboratoires HYLAND +.

Les coupes sont lues en éclairage approprié (lumière de Wood : longueur d'onde 3400 nanomètres), par deux cytologistes différents. Le nombre de glomérules est noté, l'éventuelle présence de dépôts de fibrine ainsi que leur topographie minutieusement recherchée.

Une tentative de quantification des résultats, dont la validité a été confirmée par les résultats toujours concordants de cytologistes examinant la même coupe en double aveugle, nous amène à présenter les résultats à l'aide de croix (+) :

- l'absence de croix correspond à l'absence de dépôts de fibrine,
- une croix (+) correspond à la présence de dépôts de fibrine minimes,
- deux croix (++) correspondent à la présence de dépôts de fibrine modérés,
- trois croix (+++) correspondent à la présence de dépôts de fibrine importants.

Ces examens anatomopathologiques ont été réalisés par le Laboratoire ALLEN (Dr. MIGNON-CONTE ++, et Melle C. ORFILA+++).

- + 78, avenue François Coypel, 78000 Versailles France
- ++ Chargée de recherches INSERM
- +++ Attachée de recherches INSERM

CHAPITRE III

- o -

RESULTATS ET DISCUSSION DES RESULTATS CHEZ LES SUJETS PATHOLOGIQUES

Les résultats seront présentés et discutés séparément pour chacun des trois groupes de patients. Aux paramètres mentionnés dans le tableau de résultats des sujets normaux il convient d'ajouter :

- les résultats du bilan d'hémostase, avec une colonne réservée au dosage des PDF sériques exprimés en $\mu\text{g/ml}$, et une colonne CIV donnant une vision synthétique du bilan d'hémostase à la recherche de stigmates de coagulation intravasculaire,

- les résultats anatomopathologiques, que nous résumerons à l'examen en immunofluorescence des coupes traitées par les immuns sérums antifibrine (F) et antifibrinogène (Fg).

Les résultats des comptages externes sur les aires rénales, qui n'ont pas répondu à nos espérances, seront présentés et discutés en début de chapitre.

3.1. Comptages externes sur les aires rénales

3.1.1. Résultats

Tout comme chez les sujets témoins, les comptages externes sur les aires rénales se sont avérés vains. En d'autres termes, nous n'avons jamais observé d'élévation au-dessus de 120 % ou de 1,2 du rapport :

$$\frac{\text{activité d'une aire rénale}}{\text{activité de la zone précordiale de référence}}$$

Ce rapport est même resté inférieur à 80 % ou 0,80 dans tous les cas.

La figure 9 représente l'évolution, tout au long de l'exploration, des rapports établis comme précédemment cité, pour le rein droit, le rein gauche et aussi le foie et la thyroïde que nous avons pris comme témoins et non comme références.

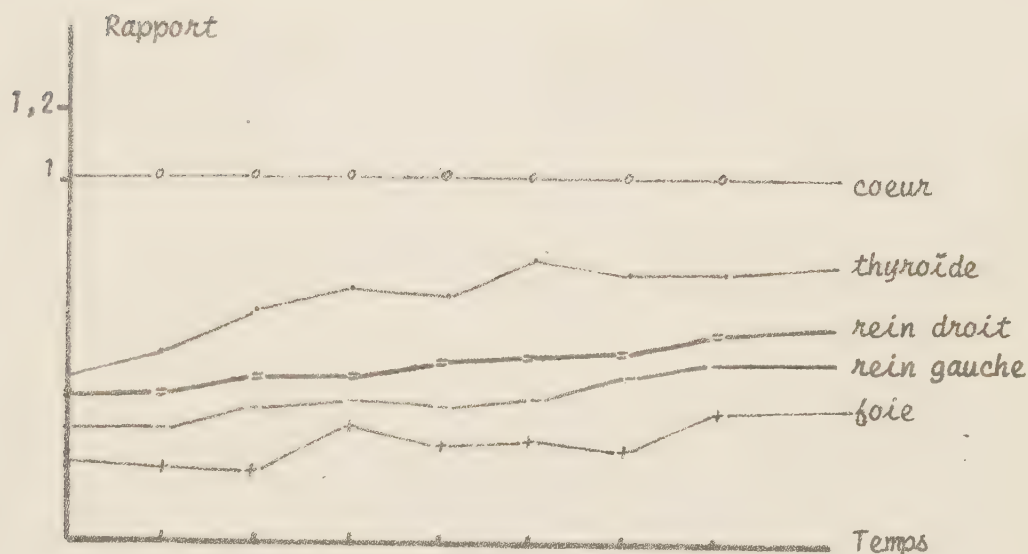


Fig. 9

Nous avons tenté d'établir des corrélations entre les paramètres métaboliques (TCF, T1/2) et les comptages externes sur les aires rénales. Il n'apparaît pas nettement, que les valeurs les plus élevées de la radioactivité accumulée sur les aires rénales, se rencontrent chez les patients ayant une cinétique du fibrinogène des plus accélérée.

Les comptages externes sur la thyroïde nous ont montré à plusieurs reprises une élévation très importante du rapport :

$$\frac{\text{activité de la thyroïde}}{\text{activité de la zone précordiale de référence}}$$

Dans ces cas là, il semblerait que la thyroïde était imparfaitement saturée et captait le radioiode libéré à partir du fibrinogène radioactif.

3.1.2. Discussion

L'utilisation de la technique radioisotopique de KAKKAR (33) (34), dans le dépistage de la maladie thromboembolique post opératoire, et les résultats très convaincants publiés par STRAUB (58) et SALAMAN (56), lors de la détection du rejet de greffe rénale, nous avaient amenés à fonder de grands espoirs sur l'étude par comptage externe, de la radioactivité accumulée dans les reins. Hélas, cette partie de notre travail s'est révélée vaine.

Nous pensons que dans le type de pathologie propre à nos malades, les dépôts de fibrine accumulés dans les reins sont quantitativement trop faibles pour occasionner une ascension du niveau d'activité sur les aires rénales supérieure au niveau d'activité liée au fibrinogène radioactif circulant dans le volume cible détecté sur la région précordiale de référence.

Un autre élément pouvant intervenir est le taux d'iodation très bas du produit utilisé (0,05 atome d'iode par molécule de fibrinogène).

Une dernière remarque enfin doit être mentionnée : la participation du fibrinogène radioactif au phénomène de coagulation intra-rénale est une éventualité dont la probabilité est faible. En effet, la quantité de fibrinogène radioactif introduite dans l'organisme est infime devant la quantité de fibrinogène natif. De plus, le fibrinogène radioactif, catabolisé à une valeur définie quotidiennement par le TCF, n'est pas remplacé, contrairement au fibrinogène natif.

On peut tirer de ces éléments deux enseignements pour l'avenir, dans la perspective des comptages externes sur les aires rénales :

- utilisation d'un fibrinogène ayant un taux d'iodation supérieur,

- injections échelonnées sur 2 à 4 jours de la même activité ou d'une activité légèrement supérieure à celle que nous avons utilisée dans ce travail en injection "flash", de façon à accroître la quantité de fibrinogène radioactif susceptible d'être trappée au niveau des reins. Dans cette éventualité, le versant métabolique de l'exploration isotopique perdrait toute signification, puisque il serait très difficile, sinon impossible, d'apprécier l'activité totale administrée au temps initial.

Le problème de la fixation de radioiode par la thyroïde a déjà été évoqué et discuté dans la seconde partie au chapitre des vérifications et discussion de la méthodologie.

3.2. Insuffisance rénale aiguë

3.2.1. Résultats

Les résultats de nos deux observations d'IRA sont rapportés dans le tableau IV.

	Fibri- némie	Créati- ninémie	Hémostase		Immuno- fluorescence		Cinétique	
			CIV	PDF	F	Fg	T1/2	TCF
N°1	5,40	64	-	10	+	±	3,28	28,5
N°2	3,80	112	+	80	pas de PBR		1,53	55

TABLEAU IV

Le bilan d'hémostase est normal dans la 1ère observation. Par contre, dans la seconde observation les PDF sériques sont élevés et il existe des signes de coagulation intravasculaire. Ce patient, rappelons-le, présentait une IRA dans un contexte de coagulation intravasculaire systémique, à la suite d'une transfusion incompatible.

L'examen en immunofluorescence montre des dépôts de fibrine modérés dans la première observation. La PBR n'a pas été pratiquée chez le second patient.

La cinétique du fibrinogène est légèrement accélérée dans le 1er cas, très franchement accélérée dans le 2ème cas. Sur la figure 10 est représentée la courbe d'activité plasmatique du patient n° 2, qui est une courbe typique de coagulation intravasculaire systémique.

3.2.2. Discussion

Bases physiopathologiques :

Dans la physiopathologie de l'IRA, on peut distinguer schématiquement un mécanisme essentiel et un mécanisme additionnel (21) :

• Le mécanisme essentiel est représenté par l'ischémie rénale corticale vasomotrice, liée à l'intervention du système

rénine-angiotensine et des catécholamines. C'est le mécanisme initial de la néphropathie tubulo-interstitielle aiguë (29), par ailleurs responsable d'une redistribution du débit sanguin rénal.

Le mécanisme additionnel consiste en l'intervention des dépôts de fibrine qui aggravent et complètent les lésions rénales, en ajoutant un facteur anatomique obstructif dans la microcirculation rénale et au niveau du filtre glomérulaire, à l'élément fonctionnel fondamental, la vasoconstriction des vaisseaux corticaux.

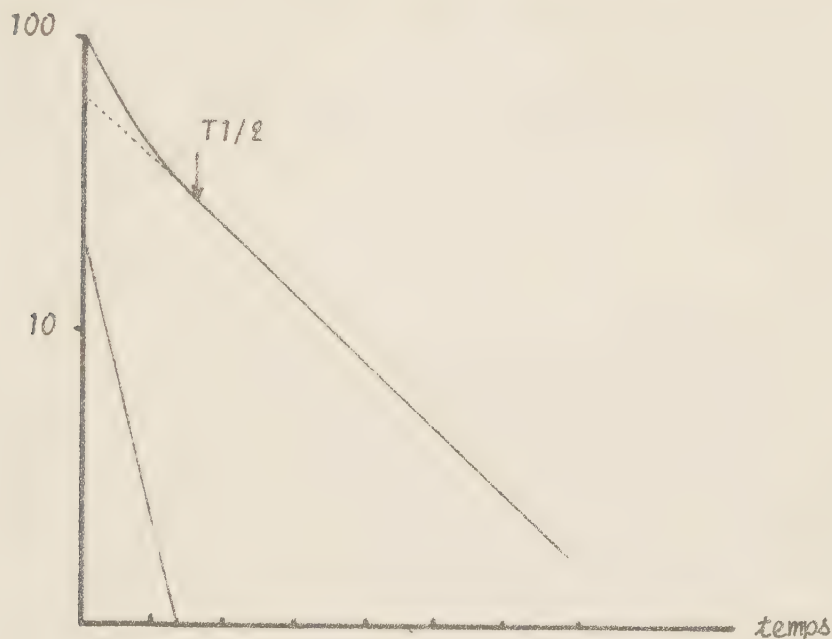


Fig. 10

Données anatomopathologiques :

L'essentiel des données anatomopathologiques que l'on rencontre dans la littérature, résulte de l'analyse de documents d'autopsie. L'indication de la PBR est en effet discutée en période aiguë. CLARKSON et Col. (17) ont montré, qu'il existe en pathologie humaine, au niveau des anses capillaires glomérulaires, dans toute IRA ischémique, un matériel granulaire présentant parfois la périodicité caractéristique de la fibrine, constitué d'autres fois, selon toute vraisemblance, de produits de dégradation de la fibrine.

Les lésions rénales sont rarement visibles en microscopie optique, mais toujours rencontrées en microscopie électronique (nécrose corticale, thrombose capillaire artériolaire ou veinulaire). Il en va de même en pathologie expérimentale, en effet,

BEN ISCHAY (7) décrit chez le chien, au cours de IRA par choc transfusionnel, la présence quasi constante de dépôts de fibrine et d'agrégats plaquettaires dans le rein en microscopie électronique, alors qu'ils paraissent absents en microscopie optique.

Il n'est pas douteux, dans les cas où l'IRA évolue dans un contexte de coagulation intravasculaire systémique, bien que le rein ne constitue pas une cible privilégiée pour les phénomènes de coagulation intravasculaire, que les dépôts fibrineux ultra-microscopiques artériolaires, capillaires et veinulaires aggravent l'ischémie corticale et favorisent la création de lésions tubulo-interstitielles organiques (21). Cette dernière remarque est à rapporter à la seconde observation d'IRA que nous présentons, où à la suite d'une erreur transfusionnelle, le patient présentait une CIVD authentique avec IRA.

Données biologiques :

Les PDF sériques sont généralement élevés, lors de la phase anurique des néphropathies tubulo-interstitielles aiguës ischémiques (17) (66) (39). Dans certains cas, où le taux des PDF sériques est normal ou sub-normal dans le sang veineux périphérique, on peut mettre en évidence par cathétérisme sélectif de l'artère et de la veine rénale l'existence d'un gradient de concentration artério-veineux au niveau du rein (36). L'élévation simultanée du facteur 4 plaquettaire, et l'apparition de complexes solubles de monomères de fibrine, durant la phase d'IRA, suggèrent l'existence d'un processus de coagulation intra-vasculaire continu (17). La phase de reprise de diurèse des néphropathies tubulo-interstitielles aiguës ischémiques, s'accompagne d'une importante excrétion de PDF dans les urines. On doit signaler, que l'ischémie corticale vasomotrice peut être majorée par la présence de PDF qui sont de puissants agents vasoconstricteurs (41).

Données isotopiques :

Nous rencontrons dans la littérature seulement 8 cas d'IRA d'étiologies variées (septicémie, syndrome d'écrasement, erreur transfusionnelle, traumatisme hépatique...), tous rapportés par WARDLE (70). Ces patients ont une cinétique du fibrinogène très accélérée avec une demi-vie moyenne de $1,85 \pm 0,42$ jours et un TCF moyen de $48,7 \pm 8,4$ %/j. Il est intéressant de noter que 7 de ces 8 patients présentaient une coagulation intravasculaire systémique initiée soit par une septicémie, soit par une libération de thromboplastine tissulaire, soit par une erreur transfusionnelle. Du reste, les PDF sériques sont élevés chez ces malades, allant de 40 à 160 $\mu\text{g/ml}$, avec une valeur moyenne de 107 $\mu\text{g/ml}$.

Corrélations :

On peut donc conclure, en l'absence de documents anatomopathologiques personnels probants, que les corrélations entre les données biologiques et isotopiques sont satisfaisantes dans le cadre de l'insuffisance rénale aiguë. Par ailleurs, la cinétique très accélérée du fibrinogène dans l'IRA semble le plus souvent liée à la participation d'une coagulation intravasculaire systémique.

3.3. Insuffisance rénale chronique

3.3.1. Résultats

Les résultats de nos 6 observations d'IRC sont présentés dans le tableau V.

	Fibri- némie	Créatin- inémie	Hémostase CIV PDF	Immuno- fluorescence F Fg	Cinétique T1/2 TCF
N°1	5	87	- > 10	pas de glomé- rules	4,53 21
N°2	3,60	60	- > 10	pas de PBR	4,04 28,8
N°3	5,10	100	- > 10	+ +	4,26 20,4
N°4	6,90	50	- > 10	pas de PBR	4,07 23,2
N°5	3,55	35	- > 10	+ +++72	3,45 23,5
N°6	5,50	30	- > 10	+ +	3,03 28,9
M ± 1C					3,89 ± 0,55 24,3 ± 3,7

TABEAU V

Le bilan d'hémostase est normal chez tous ces patients :

- . PDF inférieurs à 10 µg/ml ,
- . absence de signes de coagulation intravasculaire .

Cependant, sur le plan hématoLOGIQUE le patient n°5 se singularise par une hypoplaquettose, évoluant dans le cadre d'une pancytopenie par aplasie médullaire.

La PBR a été pratiquée chez 4 de ces malades. L'examen en immunofluorescence montre des dépôts de fibrine minimes (ou absents), les lésions étant avant tout au stade cicatriciel. Le cas n°5, chez lequel nous aurions pu rencontrer les dépôts de fibrine les plus importants, puisque son IRC est d'origine glomérulaire, n'a pas subi de PBR au cours de cette hospitalisation. Nous avons mentionné cependant les résultats en immunofluorescence d'un PBR datant de l'année précédente, qui montrait des dépôts de fibrine (+) et de fibrinogène (+++).

La cinétique du fibrinogène n'est pas accélérée dans notre groupe d'insuffisants rénaux chroniques si l'on considère les résultats globalement, ceci est en bon accord avec les données de la littérature (3) (70). Par contre les patients n°5 et 6 se singularisent par des paramètres métaboliques accélérés que nous tenterons de justifier lors de la discussion.

3.3.2. Discussion

Bases physiopathologiques :

Deux éventualités peuvent être distinguées dans le cadre de l'IRC :

- ° D'une part, le cas où l'IRC représente l'évolution terminale d'une néphropathie glomérulaire, dans cette éventualité, les phénomènes de coagulation intraglomérulaire qui pouvaient exister dès le début de l'affection ont pu disparaître (stade cicatriciel).

- ° D'autre part, le cas où l'IRC n'est pas d'origine glomérulaire (néphropathie interstielle chronique par exemple), dans cette éventualité il n'y a pas de raison immédiate d'envisager l'intervention de phénomènes de coagulation.

Il faut retenir que le syndrome vasculaire est plus souvent sévère dans l'IRC d'origine glomérulaire que dans l'IRC d'origine tubulo-interstitielle, et surtout que ce syndrome est toujours très marqué dans les microangiopathies thrombotiques primitives ou secondaires. Quoiqu'il en soit, tout syndrome vasculaire peut être à l'origine, par les dommages pariétaux qu'il occasionne, de la présence de dépôts de fibrine, tout spécialement dans le rein (68) (6). Ces dépôts de fibrine sont proportionnels à l'intensité du syndrome hémodynamique.

Données anatomopathologiques

On ne trouve pas dans la littérature d'étude anatomopathologique systématique à la recherche de dépôts de fibrine

dans le cadre de l'IRC, on note par contre, l'abondance des documents anatomopathologiques dans les glomérulopathies, élément que nous retrouverons par la suite.

Données biologiques :

ARDAILLOU (3) et WARDLE (70), présentent des taux de PDF majorés 41 $\mu\text{g/ml}$ et 33 $\mu\text{g/ml}$ respectivement, dans des groupes d'IRC, où le syndrome vasculaire est très prononcé et rebelle à la thérapeutique. Par contre, WARDLE dans un groupe de 10 IRC, sans syndrome vasculaire marqué, trouve des taux de PDF dans les limites de la normale. Nos résultats biologiques ne sont donc pas en désaccord avec ceux de la littérature.

Données isotopiques :

Les travaux récents de ARDAILLOU et Col. (3) nous apprennent que dans l'IRC, quelle que soit sa cause, le catabolisme du fibrinogène n'est pas modifié (T_{1/2} et TCF normaux). Par contre, la fibrinémie et le pool de fibrinogène rapidement échangeable (pool intravasculaire) sont majorés, ce qui aboutit à une augmentation du taux de turnover absolu. Cette judicieuse remarque est cependant un peu artificielle, car chez l'insuffisant rénal chronique :

- . l'anémie, qui occasionne une majoration relative du volume plasmatique,

- . et la fibrinémie, classiquement élevée, responsable d'un pool de fibrinogène rapidement échangeable important,

rendent compte d'un taux de turnover absolu augmenté avec un TCF normal. Pour ces auteurs il y aurait dans l'IRC une synthèse accrue du fibrinogène, directement liée à l'existence d'un pool de fibrinogène rapidement échangeable plus important que normalement. N'oublions pas cependant que l'augmentation de la synthèse du fibrinogène peut et doit également être reliée, chez ces malades en IRC, aux multiples infections chroniques auxquelles ils sont si sensibles, et qui sont souvent favorisées par les démarches à visée diagnostique ou thérapeutique (cathétérisme, sonde urinaire). A cet égard, les travaux expérimentaux de KOJ (38) sont assez significatifs. Cet auteur a, en effet, mis en évidence, lors d'abcès chez le lapin, un taux de synthèse accru du fibrinogène, par une méthode isotopique utilisant le carbonate marqué au C 14.

Des travaux et des résultats de WARDLE (70) chez les IRC, nous devons retenir plusieurs éléments. En premier lieu, cet auteur a observé une cinétique du fibrinogène strictement normale, chez les insuffisants rénaux chroniques sans ou avec syndrome vasculaire modéré.

En second lieu, l'association d'un syndrome vasculaire intense, rebelle à la thérapeutique occasionne une accélération de la cinétique du fibrinogène. Nous sommes en parfait accord avec ces deux éléments. Par contre, un troisième élément nous paraît plus discutable, WARDLE s'appuyant sur l'expérimentation animale énonce que l'urémie en soi est susceptible de provoquer une accélération du catabolisme du fibrinogène, liée à la rétention de métabolites acides (14) (68). En faveur de cette hypothèse vient le fait que des rats binéphrectomisés voient leur catabolisme du fibrinogène s'accélérer progressivement avec l'accentuation de l'urémie (63). A l'encontre de cette hypothèse nous présentons 4 patients ayant une urée sanguine supérieure à 1,20 g/l, une créatininémie supérieure à 50 mg/l et qui par ailleurs ont un métabolisme du fibrinogène strictement normal. Les résultats d'ARDAÏLOU (3) vont dans le même sens. Il convient donc d'être plus nuancé, de ne pas vouloir faire jouer à l'urémie en soi, dans les IRC, un rôle prépondérant dans une éventuelle accélération de la cinétique du fibrinogène, et de rechercher plutôt à cette éventualité une explication dans le syndrome vasculaire.

Dans notre groupe d'insuffisants rénaux chroniques les malades n°s 5 et 6 se singularisent. Le patient n° 5 se caractérise en effet par un T1/2 légèrement raccourci avec un TCF strictement normal, l'hypertension artérielle et les lésions vasculaires que présentait le malade peuvent expliquer ce raccourcissement du T1/2. Le patient n°6 se caractérise par un T1/2 plus franchement raccourci avec un TCF dont l'augmentation est dans un meilleur rapport avec le T1/2 que dans l'observation précédente. Les lésions amyloïdes rencontrées chez ce malade peuvent rendre compte de cette altération de la cinétique du fibrinogène, encore que la seule observation de glomérulopathies amyloïde que nous trouvions dans la littérature (70) s'accompagne d'une cinétique du fibrinogène strictement normale.

Corrélations :

En fin de compte, dans le groupe des insuffisants rénaux chroniques, les corrélations entre les données isotopiques et biologiques sont satisfaisantes. Par contre, il serait hasardeux d'établir des rapprochements avec l'anatomopathologie. En effet, la littérature est muette à ce sujet, et dans notre travail nous disposons de documents anatomopathologiques dans 4 cas seulement.

On doit retenir enfin, que la cinétique du fibrinogène est strictement normale dans l'insuffisance rénale chronique, sauf lorsqu'un syndrome vasculaire sévère et rebelle à la thérapeutique se manifeste.

3.3. Glomérulonéphrites

Nous envisagerons en premier lieu le cas des glomérulonéphrites lupiques, pour réserver à l'ensemble des glomérulonéphrites primitives la seconde partie de ce paragraphe.

3.3.1. Glomérulonéphrites lupiques

Résultats

	Fibrinémie	Créatininémie	Hémostase		Immuno-fluorescence		Cinétique	
			CIV	PDF	F	Fg	T1/2	TCF
N°1	3,50	8	-	40	++	++	1,67	61,9
N°2	3,60	20	+	40	+	+	2,73	36,3

TABLEAU VI

Le bilan d'hémostase montre :

- des PDF sériques augmentées chez les 2 patients,
- des signes de coagulation intravasculaire chez le patient n° 2.

La PBR a été pratiquée dans les 2 cas. Les dépôts de fibrine sont discrets chez un des malades, modérés chez l'autre, les lésions glomérulaires étant caractérisées principalement par d'abondants dépôts d'immunoglobulines et de complément sur le versant endothélial de la membrane basale.

Malgré ces données histologiques rassurantes, la cinétique du fibrinogène est franchement accélérée chez ces 2 patients.

Discussion

Dans ces deux observations, si les lésions rénales étaient modérées ou discrètes, à l'opposé les signes articulaires et pleuro-péricardiques étaient au premier plan (surtout chez le patient n°1 qui était vraiment en poussée aigue lors de l'examen). En d'autres termes chez ces deux patients les perturbations très prononcées du métabolisme du fibrinogène ne traduisent pas

l'intensité des autres manifestations systémiques de la maladie.

La seule observation de néphropathie lupique que nous rencontrons dans la littérature est présentée par WARDLE (70), la cinétique du fibrinogène est sensiblement normale ($T_{1/2} = 3,60$ jours) ($TCF = 23,6 \text{ \%}/j$) et les PDF sont à $12 \text{ }\mu\text{g/ml}$, sans autre renseignement clinique ou biologique. Ceci renforce notre position quant à l'interprétation que nous donnons de nos deux observations.

Corrélations

En l'absence d'éléments de référence, sur 2 observations seulement il est impossible d'établir des corrélations.

3.4.2. Glomérulonéphrites primitives

Au cours des GN primitives le $T_{1/2}$ du fibrinogène est raccourci de manière significative ($3,10 \pm 0,15 j$), alors que le TCF, avec une valeur moyenne de $30,1 \pm 3,5 \text{ \%}/j$ est modifié de manière non significative. Les résultats et la discussion doivent être envisagés en fonction de l'évolution aiguë ou chronique, et du type histologique de l'atteinte glomérulaire.

Résultats

Glomérulonéphrites aiguës

Les résultats sont rapportés dans le tableau VII.

	Fibri- némie	Créatin- inémie	Hémostase		Immuno fluorescence		Cinétique	
			CIV	PDF	F	Fg	T1/2	TCF
N° 1	5,15	17	-	> 10	+	+	3,66	26,7
N° 2	3,60	75			++	++	3,35	29,1
N° 3	4	23	-	> 10	pas de PBR		2,94	42
N° 4	3,70	10	-	> 10	+	+	3	33
N° 5	2,80	10	-	> 10	pas de glo- mérule		3,11	27,3
M ± IC							3,21	31,6
							± 0,37	± 7,8

TABLEAU VII

Le bilan d'hémostase est normal, dans 4 des 5 observations. Le patient n° 2 présentait un bilan d'hémostase très perturbé lors de l'exploration, les stigmates biologiques de coagulation intravasculaire ne se retrouvant pas sur les bilans ultérieurs, nous préférons, par prudence, ne pas mentionner ces résultats peut-être erronés.

La PBR a été pratiquée chez 4 des 5 patients et nous disposons de 3 examens en immunofluorescence. Les dépôts de fibrine sont modérés dans 2 cas et plus importants chez le malade qui présentait un bilan d'hémostase suspect.

Sur le plan isotopique, les résultats sont homogènes avec un T1/2 moyen raccourci de manière significative et un TCF moyen augmenté de manière moins significative.

Dans ce groupe de malades, il nous a été possible de réaliser une étude itérative sur le patient n° 3. L'amélioration clinique et biologique constatée lors de la seconde exploration s'est accompagnée d'une amélioration concomitante des paramètres isotopiques, comme l'objective le tableau VIII

Date de l'exploration	Etat clinique	Creatinine	PDF	T1/2	TCF
30/11/73		23	>10	2,94	42
28/12/73	amélioration	17	>10	3,19	28

TABLEAU VIII

Glomérulonéphrites chroniques

Les résultats sont présentés dans le tableau IX pour les GNC extracapillaires, et dans le tableau X pour les GNC à dépôts mésangiaux. Ces résultats seront commentés et discutés globalement.

	Fibrinémie	Créatininémie	Hémostase		Immuno-fluorescence		Cinétique	
			CIV	PDF	F	Fg	T1/2	TCF
N° 1	3,50	8	-	10	pas de glomérule		3,33	30,6
N° 2	4,70	11	-	10	+	++	3,23	30,2

TABLEAU IX

	Fibrinémie	Créatinémie	Hémostase		Immuno-fluorescence		Cinétique	
			CIV	PDF	F	Fg	T1/2	TCF
N° 1	4,55	12	-	> 10	+	+	3,25	25,5
N° 2	4,70	12	-	> 10	+++	++	3,08	31,4
N° 3	6,75	15	+	40	pas de glomérule		3,03	26

TABLEAU X

Le bilan d'hémostase est normal dans toutes ces observations, sauf chez le dernier patient atteint de GNC à dépôts mésangiaux, qui présente des PDF à 40 µg/ml, s'accompagnant de signes indirects de coagulation intravasculaire.

La PBR pratiquée dans tous les cas a été interprétée en immunofluorescence pour 3 patients seulement. Les dépôts de fibrine sont importants chez le patient n°2 du groupe des GNC à dépôts mésangiaux, alors qu'ils sont absents ou minimes dans les autres cas.

Sur le plan isotopique, les résultats sont homogènes sur l'ensemble des 5 observations de GNC. La cinétique du fibrinogène est accélérée, comme dans les GNA, avec un T1/2 moyen raccourci de façon significative ($3,18 \pm 0,15$ j) et un TCF moyen augmenté de façon non significative ($28,7 \pm 3,6$ %/j). L'étude de la cinétique du fibrinogène ne permet pas de distinguer les 2 types histologiques de GNC que nous présentons, elle ne permet pas non plus de différencier les GNC des GNA. C'est la raison pour laquelle nous aborderons la discussion des GN primitives d'un façon globale.

On peut remarquer, que dans l'ensemble des GN primitives, les résultats sont tous homogènes sur le plan isotopique, ce qui est assez surprenant.

Discussion

Bases physiopathologiques

Dans le cadre de la pathologie inflammatoire du glomérule, qu'elle soit d'origine immunologique ou non immunologique, les mécanismes intermédiaires aboutissant à l'altération réversible ou irréversible du glomérule, réalisent des réactions en chaîne, qui empruntent une voie commune et où participent trois systèmes biologiques : le système du complément, le système des kinines, et le système de la coagulation.

Le rôle des dépôts de fibrine, dans la physiopathologie des néphropathies glomérulaires, suggéré par les travaux initiaux de VASSALI et Mac CLUSKEY (62) a ensuite été repris par de nombreux auteurs KINCAID-SMITH (35) CAMERON (16) CONTE et Col. (22) WARDLE (70). Le problème qui se pose maintenant est d'évaluer, la part prise par les phénomènes de coagulation intraglomérulaire dans l'intensité, la gravité, l'évolution et le pronostic des glomérulopathies. Si l'on est justement fondé à leur faire jouer le rôle essentiel, le recours thérapeutique aux drogues anti-thrombotiques est alors pleinement justifié (22). C'est là, d'ailleurs, une des motivations essentielles de notre travail, car si à l'heure actuelle le rôle prépondérant des phénomènes de coagulation est admis dans les glomérulonéphrites expérimentales (63) (71) (11) (23) (28) (30), en pathologie humaine de nombreuses discussions persistent encore et critiquent les orientations thérapeutiques précédemment citées.

Données anatomopathologiques

Les documents anatomopathologiques foisonnent dans la littérature. Les travaux de VASSALI et Col. en microscopie électronique datant de 1963 (62) ont ouvert la voie, et de nombreuses communications et publications confirment aussi bien en microscopie électronique qu'en microscopie en immunofluorescence ces résultats initiaux (64) (43) (37) (24) (65). La présence de dépôts de fibrine dans les glomérules, lors des glomérulopathies, n'est pas douteuse.

Nos patients ne font pas exception, cependant nous ne retrouvons des dépôts de fibrine importants que dans 2 des 6 GN primitives étudiées en immunofluorescence, les 4 autres observations s'accompagnent de dépôts de fibrine minimum.

Données biologiques

Les études des PDF se sont également multipliées dans ce type d'affection, aussi bien dans le sérum que dans les urines, où leur taux serait un reflet plus fidèle du phénomène de coagulation localisée aux reins. Certains sont même allés jusqu'à proposer la technique sanglante, que nous avons déjà évoquée, pour mettre en évidence un gradient de concentration artérioveineux des PDF au niveau du rein, devant la inutilité de certains dosages réalisés sur le sang veineux périphérique.

En fait, les travaux de CLARKSON (18), BOND (9) et BRIGGS (12) sont concordants : il n'existe pas, lors des GN, de stigmata de coagulation intravasculaire dans le sang périphérique, par contre, on peut rencontrer des PDF en abondance dans le sang et les urines.

WARDLE (70), dans une série de 10 GNC prolifératives trouve 2 patients ayant des PDF légèrement augmentés (30 $\mu\text{g/ml}$). Ceci est à rapprocher de nos résultats, puisque 1 seul des 10 patients atteints de GN primitive présente des PDF majorés.

Données isotopiques

Nous envisagerons successivement le cas des glomérulonéphrites aiguës, des glomérulonéphrites chroniques prolifératives extracapillaires, et des glomérulonéphrites chroniques à dépôts mésangiaux.

. Glomérulonéphrites aiguës

La littérature est bien pauvre à ce sujet, puisqu'elle nous amène seulement 2 observations. L'une présentée par STRAUB (58), où la cinétique du fibrinogène est franchement accélérée ($T_{1/2}$: 2,9 jours, TCF : 39,2%/j). L'autre présentée par WARDLE (70), où la cinétique du fibrinogène est accélérée dans des proportions comparables ($T_{1/2}$ = 3 jours, TCF : 38,8 %/j). Ces résultats sont tout à fait concordants avec notre série de 5 GNA.

. Glomérulonéphrites chroniques extra-capillaires

WARDLE (70) présente une série de 16 observations de GNC extracapillaires, dont 6 s'accompagnent d'une hypertension artérielle rebelle à la thérapeutique (3 de ces 6 cas étant des GN extracapillaires rapidement progressives). Dans l'éventualité où la glomérulopathie n'est pas associée à un syndrome vasculaire sévère, la cinétique du fibrinogène est strictement normale ($T_{1/2}$: 4 jours, TCF : 23,3 %/j). A l'opposé, dans l'éventualité où un syndrome vasculaire sévère est associé à la glomérulopathie, la cinétique du fibrinogène est franchement accélérée ($T_{1/2}$: 2,6 jours, TCF : 37,4 %/j). Le rôle du syndrome vasculaire, dans l'accélération du catabolisme du fibrinogène, n'est pas douteux à la vue de ces résultats. Un autre élément très intéressant est à retenir de cette série de glomérulopathies : aussi bien chez les sujets avec, que chez les sujets sans syndrome vasculaire, certains patients étaient hémodialysés. Il apparaît clairement que les résultats ne sont pas influencés par l'épuration extra-rénale, et en particulier celle-ci ne provoque pas une accélération du catabolisme du fibrinogène. Cette remarque revêt une importance certaine, elle permet en effet d'envisager avec sérénité l'exploration isotopique des phénomènes de coagulation intra-rénale chez des patients hémodialysés, ou dont on sait que leur état risque de motiver à brève échéance le recours à l'épuration extra-rénale.

Les 2 observations de GNC extra-capillaires que nous présentons se situent, sur le plan des résultats isotopiques,

à mi-chemin entre les deux sous-groupes de WARDLE.

. Glomérulonéphrites à dépôts mésangiaux

Nous ne trouvons pas dans la littérature d'observation de ce type de glomérulopathies. Dans la série de 3 patients que nous présentons, la cinétique du fibrinogène est accélérée d'une façon tout à fait comparable à l'ensemble des GN primitives.

Corrélations

Il est difficile d'établir des corrélations entre les données histologiques, biologiques et isotopiques. En effet, nous ne disposons pas, dans chaque cas, de ces 3 sources d'information. Ceci est particulièrement fâcheux chez le patient n°2, atteint de GNA, qui présente des dépôts de fibrine assez importants, mais dont le bilan d'hémostase douteux n'a pas été mentionné, et chez le patient n°3 atteint de GNC à dépôts mésangiaux, dont le bilan d'hémostase serait évocateur de coagulation intravasculaire mais chez lequel la PBR n'a malheureusement pas ramené de glomérules. Par ailleurs, le patient n°2 atteint de GNC à dépôts mésangiaux présente une cinétique du fibrinogène accélérée de façon significative, des dépôts de fibrine importants et un bilan d'hémostase normal; ce qui est surprenant.

En fin de compte, et pour conclure la discussion sur ce chapitre des glomérulopathies, on doit insister sur certains éléments :

- ° il apparaît nettement dans le groupe de GN primitives que la cinétique du fibrinogène ne différencie pas les GNA des GNC, pas plus que les différents types histologiques de glomérulopathies,

- ° les données anatomopathologiques et les études sériees des produits de dégradation de la fibrine et du fibrinogène ont conduit certaines écoles néphrologiques (22) (35) à faire jouer à la coagulation intraglomérulaire le rôle de maillon essentiel dans la chaîne des réactions intermédiaires aboutissant à la mutilation du glomérule. En effet, les dépôts de fibrine agressifs seraient à l'origine de la prolifération épithéliale qui tend à envahir tout le flocculus (20) (22) (35). L'exploration isotopique, par ses résultats, est tout à fait en faveur de cette hypothèse physiopathologique.

- ° notre tentative d'établissement de corrélation entre les données histologiques biologiques et isotopiques n'est pas pleinement satisfaisante. Les résultats sont cependant encourageants, et ce travail doit être poursuivi sur des séries plus importantes de patients.

QUATRIEME PARTIE

- o -

BILAN ET AVENIR DE LA METHODE

Dans cette quatrième partie, nous tenterons de répondre à trois questions :

- quels sont l'intérêt et la validité de la méthode d'exploration des phénomènes de coagulation localisée, par le fibrinogène radioactif,
- quel est l'apport actuel de cette méthode d'exploration en néphrologie,
- quelles sont les perspectives d'avenir.

Validité et intérêt de la méthode

L'étude de la cinétique du fibrinogène est très certainement la méthode la plus appropriée à la détection des phénomènes de coagulation intravasculaire localisée ou de faible importance.

En effet, la sensibilité de l'exploration isotopique est très satisfaisante:

- certainement supérieure à celle de l'exploration de l'hémostase, dont les seuls stigmates de coagulation intravasculaire localisée sont représentés par la présence de PDF et d'un test de paracoagulation positif, témoins indirects de l'hyperactivité thrombinique,
- certainement très inférieure à celle des techniques histologiques modernes (microscopie électronique, microscopie en immunofluorescence). Toutefois, ces dernières méthodes ont contre elles :
 - le fait qu'elles demeurent des techniques de recherche et non de routine,
 - le fait qu'elles nécessitent un prélèvement biopsique dans l'organe suspecté être le siège d'une coagulation localisée.

Le principal reproche, que l'on doit formuler à l'encontre de cette méthode, est qu'il s'agit d'une exploration aveugle car globale. En effet, dans la mesure où l'on ne détecte pas d'hy-

peractivité locale par comptage externe, le doute peut toujours subsister quant à l'origine rénale de l'accélération de la cinétique du fibrinogène. A cet égard, le rejet de greffe rénale est le seul exemple qui en pathologie rénale s'accompagne de résultats convaincants.

Apport actuel de cette méthode d'exploration en néphrologie

L'étude de la cinétique du fibrinogène a confirmé certaines conceptions physiopathologiques solidement établies. Etait-ce nécessaire ? Nous le pensons, car aux preuves irréfutables que l'anatomie pathologique et la biologie avaient déjà fournies, dans le cas de l'insuffisance rénale aiguë et du rejet de greffe rénale pour citer les exemples les plus frappants, l'exploration isotopique a ajouté un élément dynamique qui faisait jusqu'à présent défaut.

Par contre, dans d'autres cas, où les documents anatomopathologiques et les études sériees des stigmates biologiques de coagulation intravasculaire, laissaient pressentir le rôle des dépôts de fibrine sans permettre d'en préciser l'importance relative ni la part prise dans le développement de la néphropathie, l'exploration isotopique n'a pas eu jusqu'à présent l'efficacité décisive que l'on attendait d'elle. Elle n'a pas réussi à emporter les convictions pathogéniques, notamment dans le cas des glomérulonéphrites, où parmi les mécanismes intermédiaires de l'inflammation, on serait tenté d'accorder la primauté au système de la coagulation.

L'étude de la cinétique du fibrinogène a permis par ailleurs, à WARDLE d'objectiver dans certains cas (68) l'efficacité thérapeutique de l'héparine chez des patients oliguriques (68), c'était là un des buts de cette exploration.

Perspectives d'avenir

L'étude de la cinétique du fibrinogène ne deviendra certainement pas une technique de routine, tout au moins dans les conditions où nous l'avons pratiquée.

C'est une méthode trop lourde au point de vue méthodologique, trop longue au point de vue médical. En 7 à 9 jours, chez un malade grave, comme l'étaient les patients que nous avons étudiés, combien d'événements imprévus peuvent interférer, modifier l'état d'équilibre ou "steady state" nécessaire, pour appliquer la théorie compartimentale, voire motiver l'arrêt de l'exploration, l'évolution de l'état du malade appelant d'autres démarches diagnostiques et thérapeutiques prioritaires.

On peut songer à raccourcir l'épreuve, à la sensibiliser par des tests pharmacologiques (modification rapide des paramètres sous héparinothérapie), mais en fin de compte, nous le pensons, l'exploration des phénomènes de coagulation localisée à l'aide du fibrinogène radioactif est, et restera une technique d'exploration, dont il faut définir avec plus de précision les indications, et qui ne peut être qualifiée actuellement que de méthode "d'investigation clinique", mais certainement pas une méthode de routine.

CONCLUSION

Ce travail nous permet d'avancer les conclusions suivantes :

- la méthodologie employée est tout à fait satisfaisante, comme l'indique la parfaite concordance des valeurs des paramètres isotopiques, telles que nous les avons établies chez nos sujets normaux, et telles qu'on les rencontre dans la littérature,

- les comptages externes sur les aires rénales se sont toujours avérés vains,

- dans l'IRA, la coagulation intra-rénale semble la règle, mais le plus souvent dans le cadre d'un phénomène plus général de coagulation intravasculaire disséminée,

- dans l'IRC avancée, lorsque le syndrome vasculaire est jugulé, la cinétique du fibrinogène strictement normale semble exclure l'évolution d'un phénomène de coagulation intrarénale,

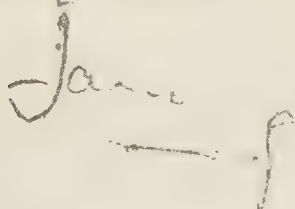
- dans les GN lupiques, les troubles du métabolisme du fibrinogène peuvent être souvent rapportés à la maladie systémique dans son ensemble, et pas seulement aux lésions rénales,

- dans les GN primitives, l'accélération modérée mais cependant certaine de la cinétique du fibrinogène, semble confirmer la participation d'un phénomène de coagulation intrarénale, sans qu'il soit possible pour autant, de différencier les affections aiguës des affections chroniques ou les différents types histologiques d'atteinte du glomérule, sur la vue des seuls résultats isotopiques,

- il serait souhaitable, enfin, d'étudier des séries de malades, atteints d'une néphropathie bien déterminée, aux effectifs plus importants (c'est essentiellement aux glomérulopathies que nous pensons).

Vu et Permis d'imprimer
Toulouse, le 26 6 74
Le Président de l'Université Paul-Sabatier

L. LARENG



VU LE PRESIDENT DU JURY,



BIBLIOGRAPHIE

- 1 . ADELSON E.
Fibrinogen and fibrin : normal metabolism.
Fed. Proc. 1965, 24, 810
- 2 . AMRIS A., AMRIS C.J.
Turnover and distribution of 131 Iodine-labelled human fibrinogen.
Thromb. Diath. haemorrh. 1964, 11, 404. (Stuttgart)
- 3 . ARDAILLOU N., SRAER J.D., BEAUFTILS P.
Fibrinogen kinetics in chronic renal failure of various causes.
Biomedicine , 1974, 21, 49.
- 4 . ASTRUP T.
Fibrinolysis in the organism.
Blood 1956, 11, 781.
- 5 . ATENCIO A.C., BAILEY H.R., REEVE E.B.
Studies on metabolism and distribution of fibrinogen in young and older rabbits. I Methods and models.
J. Lab. Clin. Med. 1965, 66, 1
- 6 . BAKER R.L., RUBENBERG M.L., DACIE J.V., BRAIN M.C.
Fibrinogen catabolism in microangiopathic haemolytic anaemia.
Brit. J. of Haemat. 1968, 14, 617.
- 7 . BEN-ISHAY Z.
Contribution to renal pathology through the use of the electron microscope . Glomerular changes.
Israel J. Med. Sci., 1967, 3, 191.
- 8 . BLOMBACK B., CARLSON L.A., FRANZEN S., ZETTERQVIST E.
Turnover of 131 I-labelled fibrinogen in man. Studies in normal subjects, in congenital coagulation factor deficiency states, in liver cirrhosis, in polycythemia vera and in epidermolysis bullosa.
Acta med. scand. 1966, 179, 557.
- 9 . BOND R.E., DONADIO J.V. Jr., HOLLEY K.E., WALTER BOWIE E.J.,
Fibrinolytic split products. A clinicopathological correlative study in adults with Lupus glomerulonephritis and various renal diseases.
Arch. intern. Med. 1973, 132, 182.

10. BONEU-VALMALETTE A., ARMAND J.P., BUGAT R., DALY N., PRIS-ANDRIEU F., LUCOT H., BONEU B., COMBES P.F.
Raccourcissement de la demi-vie du fibrinogène chez les cancéreux
Corrélations cliniques.
Journées d'Hématologie Radioisotopique. 17 et 18 avril 1974 Montpellier
11. BOYNS A.R., HARDWICKE J.
The relationship between soluble antigen-antibody complexes and the production of chronic glomerulonephritis in the rabbit.
Immunology, 1968, 14, 367.
12. BRIGGS J.D., PRENTICE C.R.M., HUTTON M.M., KENNEDY A.C., Mc NICOL G.P.
Serum and urine fibrinogen-fibrin-related antigen (F.R. Antigen) levels in renal disease.
Brit. Med. J. 1972, 4; 82.
13. BRODSKY I., SIEGEL N.H., KAHN S.B., ROSS EM., PETKOV G.
Simultaneous fibrinogen and platelet survival with (75Se) selenomethionine in man.
Brit. J. Haemat. 1970, 18, 341.
14. BROERSMA RJ., BULLEMER GD., MAMMEN EF.
Blood coagulation changes in hemorrhagic shock and acidosis (study of 33 patients).
Thromb. Diath. haemorrh. 1969, Suppl. 36, 171.
15. BURY J., JUCHMES-FERIR A.M.
Etude du renouvellement plasmatique du fibrinogène chez l'homme à l'aide du fibrinogène marqué à l'iode 125.
Journées d'Hématologie Radioisotopique. 17,18 avril 1974 Montpellier
16. CAMERON J.S.
Bright's disease today : the pathogenesis and treatment of glomerulonephritis.
Brit. Med. J. I, 1972, 4, 87 ; II, 1972, 4, 160 ; III, 1972, 4, 217.
17. CLARKSON A.R., Mc DONALD M.K., FUSTER V., CASH J.D., ROBSON J.S.
Glomerular coagulation in acute ischaemic renal failure.
Quart. J. Med. 1970, 39, 585.
18. CLARKSON A.R., Mc DONALD M.K., PETRIE J.J.B., CASH J.D., ROBSON J.S.
Serum and urinary fibrin/fibrinogen degradation products in glomerulonephritis.
Brit. Med. J. 1971, 3, 447.
19. COLLEN D., TYTGAT G.N., GLAEYS H., PIESSENS R.
Metabolism and distribution of fibrinogen. I. Fibrinogen turnover in physiological conditions in humans.
Brit. J. of Haemat. 1972, 22, 681.

20. COLMAN R.W., ROBBOY S.J. MINNA J.D.
Disseminated intravascular coagulation (DIC) : an approach.
Amer. J. Med. 1972, 52, 679.
21. CONTE J., DELSOL J., MIGNON-CONTE M., TON THAT H., SUC J.M.
Insuffisance rénale aigue et coagulation intravasculaire.
Actualités Néphrologiques. Hôp. Necker.
Flammarion Med. Paris 1973, 201.
22. CONTE J., MIGNON-CONTE M., SUC J.M.
Traitement des néphropathies glomérulaires.
Rev. Med. Toulouse 1973, IX, 597.
23. DIXON F.J., FELDMAN J.D., VAZQUEZ J.J.
Experimental glomerulonephritis. The pathogenesis of a laboratory model resembling the spectrum of human glomerulonephritis.
Journal of Exp. Med. 1961, 113, 889.
24. DIXON F.J.
The pathogenesis of glomerulonephritis.
Amer. J. Med. 1968, 44, 493.
25. FORSBERG K.
125 I-Fibrinogen and blocking of the thyroid gland.
Brit. Med. J. 1974, 3, 392.
26. GAJEWSKI J., ALEXANDER B.,
Effect of epsilonaminocaproic acid on the turnover of labelled fibrinogen in Rabbits.
Circulation Research , 1963, 13, 432.
27. GREENWOOD F.C., HUNTER W.M., GLOVER J.S.
The preparation of 131 I-labelled Human Growth Hormon of high specific radioactivity.
Biochem. J. 1963, 89, 114.
28. HALPERN B.- MILLIEZ P., LAGRUE G., FRAY A., MORAND J.C.
Protective action of heparin in experimental immune nephritis.
Nature, 1965, 205, 257.
29. HOLLENBERG N.K., EPSTEIN M., ROSEN S.M., BASH R.I., OKEN D.E. MERRILL J.P.
Acute oliguric renal failure in man : evidence for preferential renal cortical ischemia.
Medicine, 1968, 47, 455.
30. HUMAIR L., POTTER E.V., KWAAN H.C.,
The role of fibrinogen in renal disease. I. Production of experimental lesions in mice.
J. Lab. Clin. Med. 1969, 74, 60.

31. HUNTER W.N.,
The preparation of radioiodinated proteins of high specific activity.
In Handbook of experimental immunology , 1967, 608,
D.W. Wier Oxford Blackwell Edit.
32. JARNUM S.
Studies of synthesis and turnover of proteins.
In Radioisotopes in medical diagnosis. 1971, 450
E.H. Belcher and H. Vetter , London Butterworths Edit.
33. KAKKAR V.V. , FIELD E.S., NICOLAIDES A.N., FLUTE P.T., WESSLER S.,
VIN E.T.
Low doses of heparin in prevention of deep vein thrombosis.
Lancet, 1971, 11, 669.
34. KAKKAR V.V., CORRIGAN T., SPINDLER J., FOSSARD D.P, FLUTE P.T.
CRELLIN R.Q., WESSLER S., VIN E.T.
Efficacy of low doses of heparin in prevention of deep vein
thrombosis after major surgery.
Lancet, 1972, 11, 101.
35. KINCAID-SMITH P.
Coagulation and renal disease.
Kidney International 1972, 2, 183.
36. KLEINKNECHT D., KANFER A., COSSON A., GRUNFELD J.P., CHANARD J.,
JOSSO F.
Coagulation intravasculaire disséminée chez 49 malades atteints
d'insuffisance rénale aiguë.
J. Urol. Néphrol., 1972, 78, 330.
37. KOFFLER D., PARANETTO E.
Immunofluorescent localization of immunoglobulins, complement
and fibrinogen in human diseases. II. Acute, subacute and chronic glomerulonephritis:
J. Clin. Invest. 1965, 44, 1665.
38. KOJ A.,
The measurement of absolute and relative synthesis rate of
fibrinogen "in vivo".
Biochim. Biophys. Acta, 1968, 165, 97.
39. LARSSON S.O., HEDNER U., NILSSON I.M.
On coagulation and fibrinolysis in acute renal insufficiency.
Acta med. scand., 1971, 189, 443.
40. LEWIS J.H., FERGUSON EE., SCHOENFELD C.
Studies concerning the turnover of fibrinogen I131 in the dog.
J. Lab. Clin. Med. 1961, 58, 247.

41. MALOFIEJEV M.
The biological and pharmacological properties of some fibrinogen degradation products.
In *Fibrinogen degradation Products*. 1971, 303
M. Verstraete. Louvain-Copenhagen Edit. (Munksgaard)
42. MATTHEWS C.M.E.
The theory of tracer experiments with ^{131}I -labelled plasma proteins.
Physics in Medicine and Biology, 1957, 2, 36.
43. Mc CLUSKEY RT., VASSALI P., GALLO G., BALDWIN DS.
An immunofluorescent study of pathogenic mechanisms in glomerular disease.
New Engl. J. of Med. 1966, 274, 695.
44. Mc FARLANE A.S.
Efficient trace labelling of protein with iodine
Nature 1958, 182, 53.
45. Mc FARLANE A.S.
In vivo behaviour of ^{131}I -fibrinogen.
J. Clin. Invest. 1963, 42, 346.
46. MERSKEY C., LALEZARI P., JOHNSON A.J.
A rapid, simple, sensitive method for measuring fibrinolytic split products in human serum.
Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1969, 131, 871.
47. METZGER J.M., SECKER-WALKER R.H., COLEMAN R.E., KROHN K., POTCHENEE.J.
Biological Clearance and distribution studies of ^{131}I -fibrinogen labelled by four methods of iodination.
J. Nucl. Med. 1973, 14, 429.
48. MILLER LL., TITTHASARI N., NANA VAN H.R.,
Proc. Vth. Int. Congr. Biochem. Russia 1961, 43.
49. PEARSON J.D., VEALL N., VETTER H.
A practical method for plasma albumin turnover studies.
Radioaktive isotope in Klinik und Forschung, 1962, 3, 290.
50. RAMSDEN D., PASSANT F.H., PEABODY C.O., SPEIGHT R.G.,
Radioiodine uptakes in the thyroid. Studies of the blocking and subsequent recovery of the gland following the administration of stable iodine.
Health Physics, 1967, 13, 633.
51. REGOECZI E.
Measuring the coagulability of fibrinogen in plasma by isotopic means. Methods and principles of its use for in vivo studies.
Thromb. Diath. Haemorrh. 1967, 18, 276.

52. REZNIKOFF-ETIEVANT M.F., PHAN NGOC MAI, MORETTI J.L., WIRQUIN E., DROUET J., AMOUCH P.J.
Antigène HB. Résultats comparés de différentes techniques de détection et, en particulier, radioimmunologiques en phase solide ou liquide.
Journées d'Hématologie Radioisotopique. 17, 18 avril 1974 Montpellier
53. ROBERTS R.C., SONNENTAG C.O., FRISBIE J.H.
Rapid preparation of autologous radioiodinated fibrinogen
J. Nucl. Med. 1972, 13, 843.
54. ROSA U., SCASSELLATI G.A., PENNIST F.
Labelling of human fibrinogen with ¹³¹I by electrolytic iodination.
Biochim. Biophys. Acta. (Amst) 1964, 86, 519.
55. SALAMAN J.R.
Use of radioactive fibrinogen for detecting rejection of human renal transplants.
Brit. Med. J. 1970, 2, 517.
56. SALAMAN J.R.
A technique for detecting rejection episodes in human transplant recipients using radioactive fibrinogen
Br J Surg 1972, 59, 138.
57. STRAUB P.W.
A study of fibrinogen production by human liver slices in vitro by an immunoprecipitation method
J. Clin. Invest. 1963, 42, 130.
58. STRAUB P.W.
Chronic intravascular coagulation. Clinical spectrum and diagnostic criteria with special emphasis on metabolism, distribution and localisation for ¹³¹I fibrinogen.
Acta ; Med. Scand. 1971, suppl. 526. 1.
59. TAKEDA Y.
Studies on the metabolism and distribution of fibrinogen in healthy men with autologous ¹²⁵I-labeled fibrinogen.
J. Clin. Invest. 1966, 45, 103.
60. THORELL J.I., LARSSON I.
Lactoperoxidase coupled to polyacrylamide for radio-iodination of proteins to high specific activity.
Immunochemistry , 1974, 11, 203.
61. TYTGAT G.N., COLLEN D., VERMYLEN J.
Metabolism and distribution of fibrinogen. II. Fibrinogen turnover in polycythaemia, thrombocytosis, haemophilia a congenital afibrinogenemia and during streptokinase therapy.
Brit. J. Haemat. 1972, 22, 701.

62. VASSALLI P., SIMON G., ROUILLER C.
Electron microscopic study of glomerular lesions resulting from intravascular fibrin formation.
Amer. J. Path. 1963, 43, 597.
 63. VASSALLI P., Mc CLUSKEY R.T.
The pathogenic role of fibrin deposition in immunologically induced glomerulonephritis.
Annals of New York Academy of Science, 1964, 116, 1052.
 64. VASSALI P., Mc CLUSKEY R.T.
The coagulation process and glomerular diseases.
Amer. J. Med. 1965, 39, 179.
 65. VASSALI P., Mc CLUSKEY R.T.
Rôle du processus de coagulation dans les affections glomérulaires d'origine immunologique. Actualités Néphrologiques. Hôp. Necker Flammarion Med. Paris, 1971, 55.
 66. VERSTRAETE M., VERMYLEN J., DONATI M.B.
In fibrinogen degradation products. 1971, 392
Munksgaard Copenhagen Edit.
 67. WALDMANN T.A.
Protein-losing enteropathy and kinetics studies of plasma protein metabolism.
Seminars in Nuclear Medicine 1972, 3, 251.
 68. WARDLE E.N.
Radiofibrinogen studies in renal hypertension.
Angiologica 1971, 8, 94.
 69. WARDLE E.N., ULDALL P.R.,
Effect of heparin on renal function in patients with oliguria.
Brit. Med. J. 1972, 4, 135.
 70. WARDLE E.N.
Fibrinogen catabolism studies in patients with renal disease.
Quart. J. Med. 1973, 165, 205.
 71. WARDLE E.N.
A study of intravascular coagulation in immun complex glomerulonephritis by use of ¹³¹I-labelled fibrinogen and ¹²⁵I-labelled antigen.
Clinical Science and Molecular Medicine 1973, 45, 35.
 72. WINSTON M.A.
Use of ¹³¹I fibrinogen in detection of renal transplant rejection.
Invest. Urol. 1971, 9, 119.
-

